



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Implicación de los defectos del tráfico vesicular en las
enfermedades neurodegenerativas**

**Implication of vesicular trafficking defects in
neurodegenerative diseases**

Autor: Alba Pérez Soberón

Directores: María Jesús Lucas Gay
Esther Tamayo Revuelta

Santander, Junio 2019

ÍNDICE

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. TRÁFICO INTRACELULAR	6
2.1 VÍA SECRETORA Y EXOCITOSIS	6
2.2 VÍA ENDOCÍTICA Y DE RECICLAJE	8
2.3 VÍA LISOSOMAL.....	9
2.4 TRÁFICO VESICULAR EN NEURONAS.....	10
3. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y TRÁFICO INTRACELULAR.....	11
3.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	11
3.1.1 Definición de la enfermedad.....	11
3.1.2 Epidemiología	12
3.1.3 Etiología	12
3.1.4 Manifestaciones clínicas	14
3.1.5 Patofisiología y características neuropatológicas. Progresión.	15
3.1.6 Estrategias terapéuticas actuales.....	17
3.2 FACTORES DE RIESGO GENÉTICOS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER VINCULADOS CON TRÁFICO VESICULAR.	17
3.3 APP, BACE1 Y γ -SECRETASA: TRÁFICO INTRACELULAR Y PRODUCCIÓN DE β -AMILOIDE	18
3.4 DEFECTOS EN LA ENDOCITOSIS RELACIONADOS CON LA EA	21
3.5 ATASCOS EN LOS ENDOSOMAS Y LA RUTA DE RECICLAJE RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	22
4. ENFERMEDAD DE PARKINSON Y TRÁFICO INTRACELULAR	25
4.1 ENFERMEDAD DE PARKINSON	25
4.1.1 Definición de la enfermedad.....	25
4.1.2 Epidemiología	25
4.1.3 Manifestaciones clínicas	26
4.1.4 Patofisiología y características neuropatológicas. Progresión.	26
4.1.5 Etiología	27
4.1.6 Estrategias terapéuticas actuales.....	29
4.2 FACTORES DE RIESGO GENÉTICOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON VINCULADOS CON TRÁFICO VESICULAR	30

.....	32
4.3 α -SINUCLÉINA Y TRÁFICO DE VESÍCULAS EN LA SINAPSIS.....	32
4.4 DEFECTOS EN EL TRÁFICO LISOSOMAL Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON	34
4.4.1 LRRK2 y tráfico lisosomal	34
4.4.2 GBA y función lisosomal.....	35
4.4.3 Mitofagia.....	36
4.4.4 Otros genes relacionados con enfermedad de Parkinson involucrados en el tráfico lisosomal	36
4.5 DEFECTOS EN EL TRÁFICO DE LA VÍA ENDOCÍTICA.....	37
4.5.1 Disfunción del retrómero en la enfermedad de Parkinson.....	37
4.5.2 Otros genes relacionados con enfermedad de Parkinson involucrados en el tráfico endosomal	38
5. NUEVAS PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DIRIGIDAS AL TRÁFICO INTRACELULAR	39
5.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	39
5.1.1 Fracaso y éxitos de las terapias dirigidas contra las placas de β -amiloide, Tau e inflamación	39
5.1.2 Disminución de β -amiloide mediante el control del tráfico vesicular.....	40
5.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON	42
5.2.1 Fracaso y éxitos de las terapias para la enfermedad de Parkinson.	42
5.2.2 Aproximaciones terapéuticas dirigidas al tráfico vesicular	43
6. CONCLUSIONES.....	44
7. BIBLIOGRAFÍA.....	45

ABREVIATURAS

A β : péptido β -amiloide

ApoE: apolipoproteína humana E

APP: proteína precursora del amiloide

BACE1: Beta-secretase enzyme 1

BIN1: Bridging integrator 1

CIMPR: Cation-independent-mannose-6-phosphate receptor.

COMT: catecol-O-metil-transferasa

DCL: deterioro cognitivo leve

EA: enfermedad de Alzheimer

ECP: estimulación cerebral profunda

EP: enfermedad de Parkinson

ERGIC: Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment

FDA: Food and Drug Administration

GlcCer: glucoesfingolípido glucoceramida

IMAO-B: Inhibidores de la monoaminoxidasa B

LRRK2: Leucine-rich repeat kinase 2

NSF: N-Ethylmaleimide Sensitive Factor

PICALM: Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein

PSEN: presenilina

SN: sustancia negra

SNARE: soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment proteín receptor

SNC: Sistema Nervioso Central

SNX: Sorting nexin

SORL1: Sortilin protein-related receptor

TGN: Trans-Golgi Network

VPS: Vacuolar protein sorting

RESUMEN

El tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson continúa siendo sintomático pese a la repercusión clínica, social y económica de las mismas. Los últimos avances en estudios genéticos y en modelos experimentales han puesto de manifiesto la relevancia de las alteraciones en las rutas del tráfico intracelular en estas patologías. Por una parte, en la enfermedad de Alzheimer se ha detectado que el agrandamiento de los endosomas es un sello citopatológico de la enfermedad, que genes relacionados con el tráfico endosomal-lisosomal se sitúan entre los principales factores de riesgo y que las alteraciones en el tráfico intracelular de APP, BACE1 y de la γ -secretasa provocan un aumento en la producción de péptido β -amiloide. Por otra parte, en la enfermedad de Parkinson, se ha propuesto que los defectos en el tráfico lisosomal y endosomal debidos a alteraciones de genes como LRRK2 y GBA, están implicados en su fisiopatología. Estos descubrimientos sitúan al tráfico vesicular y al rescate de sus defectos como una nueva diana terapéutica para intentar atenuar el desarrollo de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, así como para mejorar su pronóstico y supervivencia.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, Tráfico intracelular

ABSTRACT

The treatment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's disease continues to be symptomatic in spite of their clinical, social and economic repercussions. The latest advances in genetic studies and experimental models have revealed the relevance of alterations in intracellular trafficking routes in these pathologies. On the one hand, in Alzheimer's disease, it has been detected that the enlargement of endosomes is a cytopathological hallmark of the disease, that genes related to endosomal-lysosomal traffic are among the main risk factors and that alterations in the intracellular trafficking of APP, BACE1 and γ -secretase cause an increase in the production of β -amyloid peptide. On the other hand, in Parkinson's disease, it has been proposed that defects in the lysosomal and endosomal traffic due to alterations of genes such as LRRK2 or GBA are involved in its pathophysiology. These discoveries have position the vesicular traffic and the rescue of its defects as a new therapeutic target to try to stop Alzheimer's and Parkinson's diseases, as well as to improve its prognosis and survival.

Key words: Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Intracellular trafficking

1. INTRODUCCIÓN

Pese a que Alois Alzheimer reportó el primer caso de la enfermedad de Alzheimer en 1907¹, sigue sin haber tratamientos modificadores de esta enfermedad. La enfermedad de Alzheimer es la quinta causa de muerte a nivel global². En 2015, alrededor de 50 millones de personas padecían demencia, siendo la enfermedad de Alzheimer la principal causa de esta³. Se cree que se llegará a 130 millones de afectados en 2050⁴. En España, según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE) en 2004 el número de personas afectadas por demencia era de 431.000. Si las previsiones de crecimiento son correctas se calcula que en 2030 la cifra alcanzará casi los 600.000 enfermos, y en 2050 cerca del millón. El 80% de los enfermos reciben cuidados por sus familias, que asumen de media el 87% del coste total, con la consiguiente sobrecarga y deterioro de la salud y calidad de vida de los cuidadores⁵. Por lo tanto, es una causa importante de dependencia, discapacidad y mortalidad.

A pesar de los grandes avances en la investigación de la base clínica y moleculares de la enfermedad de Alzheimer realizados en los últimos 30 años, en la actualidad los tratamientos disponibles son solo sintomáticos y su eficacia disminuye con el tiempo. Desde 2003 más de 200 compuestos evaluados en ensayos clínicos han fracasado⁶. Las estrategias terapéuticas desarrolladas hasta la fecha se centraban en disminuir los depósitos de β -amiloide. El fracaso de todas ellas pone de manifiesto la necesidad de explorar nuevas aproximaciones terapéuticas².

Respecto a la enfermedad de Parkinson, en España se calcula que hay unos 300000 pacientes con enfermedad de Parkinson, y al menos un nuevo caso por 10000 habitantes cada año. Esta enfermedad produce un gran cambio en la calidad de vida de quien la padece. Además, supone un gran coste económico para el país, pudiendo llegar a más de 17.000 € anuales por paciente. Las nuevas terapias y el envejecimiento de la población supondrán que este gasto aumente⁷. Y al igual que para la enfermedad de Alzheimer no se dispone de ningún medicamento que cure o retrase el avance de la enfermedad.

Los genes y las vías involucradas en el tráfico intracelular se han asociado con la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la Demencia Frontotemporal y la Esclerosis Lateral Amiotrófica. En las últimas décadas ha habido un aumento de la secuenciación de ADN que ha permitido determinar mutaciones y variaciones genéticas que subyacen a diversas enfermedades neurodegenerativas. Varias de estas se han asociado a proteínas que se encargan del transporte endosomal y lisosomal, de forma que la desregulación de este proceso ha aparecido como un pilar importante a la hora de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas⁸.

En este trabajo de fin de grado se realiza una revisión exhaustiva de los defectos del tráfico intracelular implicados en las enfermedades neurodegenerativas de Alzheimer y Parkinson, así como de las últimas investigaciones que indican que terapias dirigidas a rescatar estos defectos podrían actuar como una nueva aproximación terapéutica para intentar frenar el desarrollo de la enfermedad, así como para mejorar su pronóstico y supervivencia.

2. TRÁFICO INTRACELULAR

Los componentes celulares se comunican mediante el llamado tráfico vesicular. Supone un movimiento de moléculas, que pueden exportarse mediante la ruta secretora, o importarse a la célula mediante la ruta endocítica. Además, hay una ruta de reciclaje para aquellas moléculas que se van a necesitar de nuevo, así como una ruta lisosomal para la degradación intracelular⁹. Este tráfico intracelular está regulado por una gran cantidad de proteínas que garantizan que las moléculas transportadas, denominadas carga, se empaqueten en vesículas y sean transportadas específicamente a su destino (Figura 1).

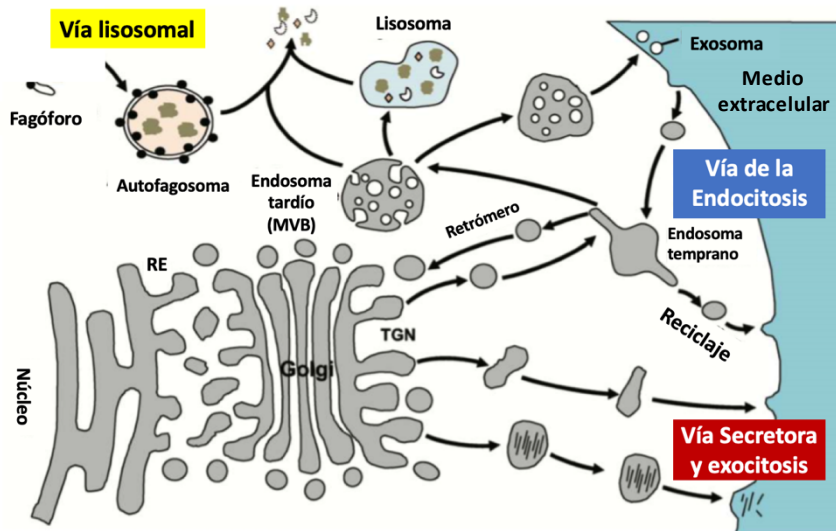


Figura 1. Tráfico de membranas en las células eucariotas. El tráfico vesicular se divide en dos rutas principales. En la vía secretora, las proteínas sintetizadas del retículo endoplasmático pasan por el complejo cis-Golgi y se mueven a través del TGN. En la vía de endocitosis, se introducen moléculas desde la superficie celular hasta el endosoma temprano, que determina el destino posterior de la carga. Esta se puede reciclar en la membrana, al TGN o degradar en los lisosomas. Los cuerpos multivesiculares o endosomas tardíos y los lisosomas participan en la proteólisis autofágica. Los cuerpos multivesiculares también pueden fusionarse con la membrana plasmática. Esto conduce a la liberación de vesículas llamadas exosomas. Figura modificada de ¹⁰.

2.1 VÍA SECRETORA Y EXOCITOSIS

A través de la vía secretora se transportan proteínas en vesículas de transporte desde su lugar de síntesis, el retículo endoplasmático, hasta su destino, la membrana superficial de la célula u orgánulo, donde se fusionan.

El lugar de síntesis de proteínas, el **retículo endoplasmático**, es un complejo sistema de membranas que representa más de la mitad de las membranas de una célula. Se organiza en dos dominios con diferentes funciones: el retículo endoplasmático rugoso y el liso. El retículo endoplasmático rugoso, mediante sus ribosomas asociados, se encarga principalmente de la síntesis de proteínas transmembrana de la membrana plasmática, así como de proteínas residentes del propio retículo. El retículo endoplasmático liso no tiene ribosomas asociados y está implicado en funciones como la síntesis lipídica, la detoxificación o la defosforilación de la glucosa-6-fosfato, y es reservorio intracelular de calcio. Además del tráfico de proteínas, hay un transporte vesicular de lípidos como el colesterol. También se transporta el calcio, que

puede salir masivamente en respuesta a señales intra o extracelulares, desencadenando respuestas como la exocitosis⁹.

A continuación, estas proteínas y lípidos se transportan fuera del retículo endoplasmático en vesículas y compartimentos membranosos hacia el **aparato de Golgi**, que se genera y se mantiene gracias a este tráfico. De la formación de las vesículas y de la selección de los paquetes en el retículo endoplasmático se encargan las proteínas citosólicas COPII (GTPasas Sar1, sec23-24 y sec13-31). Tras fusionarse las vesículas, forman el transportador túbulo vesicular o ERGIC (“endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment”), que se dirige al Golgi-cis, con el que se fusiona, formándose las cisternas del aparato de Golgi. Por otra parte, el lado trans del complejo contiene el TGN (“trans-Golgi network”), donde las cisternas con las moléculas procesadas forman vesículas y se dirigen a otros compartimentos. El transporte del lado cis al trans se ha explicado con diversas teorías, siendo el más aceptado el “modelo de la maduración de cisternas”. En este, se dice que los cuerpos túbulo-vesiculares (ERGIC) forman una cisterna en cis que se mueve y progresa hacia el lado trans, donde se descompone en vesículas. Dentro de las múltiples funciones del aparato de Golgi, el TGN es la plataforma desde la que se produce la exocitosis de vesículas a los diferentes compartimentos. Además, participa en el transporte de estas a endosomas tardíos y en la ruta de reciclaje. Es decir, constituye una plataforma de señalización intracelular⁹.

Este proceso continúa con la **exocitosis**, es decir, con la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. Se produce en todas las células eucariotas, ya que es necesaria la liberación de moléculas para la matriz extracelular, por lo que hay una exocitosis constitutiva. Sin embargo, en algunas células especializadas en la secreción, como ocurre en las neuronas, hay una exocitosis regulada. Las vesículas no se fusionan espontáneamente con la membrana, sino que necesitan una señal inductora, como un aumento de la concentración de calcio.

Para que se dé el transporte en la vía secretora y la exocitosis de manera adecuada, es necesario que se orienten las vesículas hacia las membranas diana. Las **Rab GTPasas** son las encargadas del proceso de reconocimiento y anclaje de las vesículas con el compartimento diana. Una proteína Rab en la superficie de la vesícula interactúa con un receptor de Rab (efector de Rab) de la membrana diana. La especificidad se consigue mediante diferentes tipos de Rab para vesículas de cada paso de la vía secretora y receptores complementarios en las membranas dianas. Un ejemplo es Rab1A, que se encarga del transporte entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi¹¹ (Figura 2).

Una vez producido el acoplamiento de las vesículas en la membrana, interactúan las proteínas transmembrana **SNAREs** (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*), de manera que las dos membranas se juntan y se fusionan. Estas proteínas van a contribuir también a dirigir el transporte vesicular ya que existen en parejas complementarias, una v-SNARE localizada en la membrana de las vesículas y un t-SNARE en la membrana diana. Al interaccionar las estructuras helicoidales de las proteínas v-SNARE y t-SNARE van a formar un complejo molecular de cuatro hélices que mediante un proceso de trenzado van a producir la fusión de ambas membranas. Una vez realizada la fusión, el complejo SNARE se disocia de manera rápida mediante la proteína NSF, una ATPasa, y las proteínas v-SNARE y t-SNARE recuperan la conformación original para el siguiente evento de fusión (Figura 2). Los SNAREs juegan un papel esencial en la exocitosis de vesículas sinápticas en los terminales nerviosos. Los SNAREs neuronales consisten en las proteínas syntaxin 1 y SNAP-25 en la membrana

plasmática (t-SNARE), y la sinaptobrevina (también llamada proteína VAMP2) en la membrana vesicular (v-SNARE) ¹².

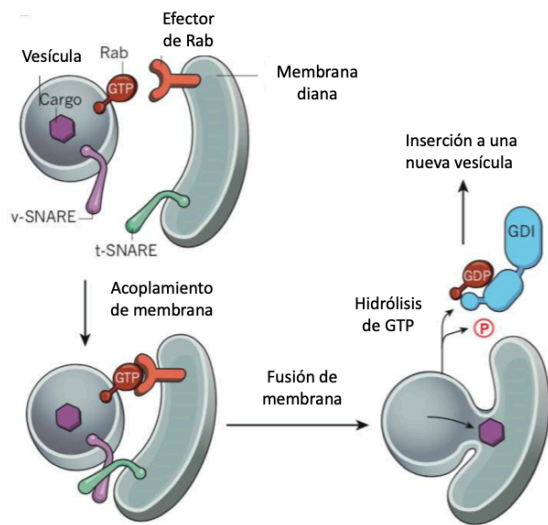


Figura 2. Acoplamiento de vesículas y fusión con membranas diana. Las Rab GTPasas están involucradas en dirigir las vesículas a las membranas correctas. Una proteína Rab en la superficie de la vesícula interactúa con un efector de Rab que se encuentra en la membrana diana. Esta interacción hace que la vesícula se acople con la membrana apropiada. Una vez que la vesícula se ha acoplado con la membrana diana, interactúan las proteínas transmembrana llamadas SNAREs, que reúnen las dos membranas para permitir la fusión. En la fusión de vesículas, el GTP se hidroliza y la proteína Rab se extrae de la membrana mediante la proteína GDI (inhibidor de la disociación a GDP) y se reinserta en la membrana de una nueva vesícula para que se pueda repetir el ciclo. Figura modificada de ¹¹.

2.2 VÍA ENDOCÍTICA Y DE RECICLAJE

Las proteínas y otras moléculas son incorporadas a la célula a través de la **endocitosis**. Durante este proceso parte de la membrana plasmática se invagina para formar una vesícula que incorpora las proteínas¹¹. Las vesículas se fusionan con compartimentos internos, principalmente con los **endosomas**. Los endosomas son compartimentos membranosos de forma irregular que se comportan en la vía de la endocitosis de forma parecida al TGN en la exocitosis, se trata de una estación de llegada, clasificación y reparto de moléculas⁹.

Existen dos tipos de endocitosis, una inespecífica de moléculas disueltas, llamada pinocitosis, y otra específica mediada por receptor. La mayoría de la endocitosis celular ocurre por **endocitosis específica mediada por receptor**, que es muy eficiente, ya que puede incorporar moléculas en bajas concentraciones. Estas se unen a sus receptores y forman complejos receptor-ligando, que van a ser integradas en vesículas para viajar al interior celular. Esto se realiza mediante las **vías dependientes de clatrina**. La invaginación se produce mediante un recubrimiento compuesto por la proteína clatrina en la cara citosólica de la membrana plasmática, que más adelante se elimina. La proteína clatrina tiene una estructura que ayuda a la invaginación y al cierre de la vesícula. Además de la endocitosis específica, casi todas las células eucariotas ingieren continuamente zonas de su membrana plasmática en forma de pequeñas vesículas por **pinocitosis**. Las vesículas de pinocitosis se pueden formar en la membrana plasmática a partir de depresiones revestidas de clatrina. Cuando se invaginan forman vesículas revestidas llenas de fluido extracelular y de esta manera pueden internalizar sustancias extracelulares. También puede darse la pinocitosis mediante **caveolas**, que consisten en pequeñas invaginaciones de la membrana que se transforman en vesículas. Se cree que se forman en microdominios de membrana ricos en colesterol, glucoesfingolípidos y proteínas unidas a la membrana con la ayuda de la proteína estructural caveolina. Las vesículas resultantes se fusionan con los endosomas tempranos formando el caveosoma. Se cree que tienen funciones relacionadas con la modulación de la transducción de señales celulares^{11,9,13}.

Una vez que se ha producido la endocitosis, los **endosomas tempranos** reciben las vesículas gracias a su cercanía a la membrana plasmática. El pH ácido del endosoma permite que los receptores internalizados liberen los ligandos que llevan unidos en el interior del endosoma. Desde los endosomas tempranos las proteínas de membrana pueden seguir rutas diferentes: la vía de degradación hacia los lisosomas, la vía retrógrada al aparato de Golgi o la vía de reciclaje para volver a la membrana plasmática en vesículas de reciclaje.

La ruta **de reciclaje en los endosomas** está regulada por el complejo retrómero que consiste en un trímero de las proteínas VPS26, VPS29 y VPS35. El **retrómero** se encarga del reciclaje de proteínas de membrana presente en los endosomas hacia la membrana plasmática y del transporte retrógrado desde endosomas hacia el TGN. El retrómero selecciona la carga (las proteínas de membrana) y se asocia a un módulo de tubulación que dirige la carga hacia su destino final. Este módulo consta de proteínas nexinas, denominadas SNX1 y SNX2, que deforman la membrana de los endosomas en vesículas tubulares. El retrómero juega un papel muy importante en las neuronas, en concreto, en el reciclaje de receptores de glutamato y otros receptores, para facilitar que estos vuelvan a la membrana plasmática durante la remodelación sináptica y la plasticidad neuronal. Además, el retrómero es especialmente importante en mantener la integridad de sistema lisosómico, ya que el transporte de los receptores de proteasas e hidrolasas de los endosomas al TGN, facilita la rápida entrega de estas enzimas a los lisosomas. Se ha sugerido que el retrómero podría estar también relacionado con los mecanismos de autofagia, siendo crucial en la formación y función de los autofagosomas^{11,14}.

2.3 VÍA LISOSOMAL

Las proteínas destinadas a la degradación circulan desde el endosoma temprano al **cuerpo multivesicular o endosoma tardío**, que a continuación se fusiona con el lisosoma. Para ser dirigidas a este destino lisosomal, las proteínas integrales de la membrana han de sufrir previamente una ubiquitinación de su parte citosólica, ya que, si no se produce este proceso, se reciclarán de nuevo hacia la membrana celular o al TGN del aparato de Golgi desde el endosoma temprano.

Los **lisosomas** son orgánulos ácidos que albergan enzimas, las hidrolasas ácidas, para la degradación de macromoléculas. Los productos resultantes se transportan al citosol mediante transportadores de membrana lisosomal específicos. Cualquier defecto en las hidrolasas provoca que los productos que no se degraden se acumulen en la célula como productos residuales.

Los lisosomas no solo degradan sustancias procedentes del exterior de la célula, también pueden englobar y digerir orgánulos y áreas del citoplasma de la propia célula por **macroautofagia**. Es un proceso evolutivamente conservado por el que ciertos constituyentes del citoplasma son engullidos en vesículas de doble membrana llamadas autofagosomas, que se pueden fusionar con lisosomas, formando autolisosomas, donde se digiere el contenido. Algunos de estos constituyentes son proteínas defectuosas, agregados u organelas. La degradación macroautofágica de mitocondrias defectuosas se denomina **mitofagia**. Es un tipo especial de macroautofagia en el que las mitocondrias se marcan selectivamente para destruirse^{11,9,15,16}.

2.4 TRÁFICO VESICULAR EN NEURONAS

Las neuronas poseen un cuerpo celular (soma), un axón y múltiples dendritas. La correcta clasificación y tráfico de las cargas desde el TGN a las dendritas o al axón son vitales para el desarrollo neuronal, para el establecimiento y mantenimiento de la polaridad neuronal y para los eventos de señalización neuronal. Además, la función sináptica depende del tráfico endosomal, el cual contribuye a la liberación presináptica de neurotransmisores y regula la densidad de receptores postsinápticos. Las vesículas son empaquetadas en el soma neuronal y se dirigen hacia el terminal presináptico, que se puede encontrar a centímetros de distancia. El camino lo determinan los microtúbulos y filamentos de actina del citoesqueleto. Este, junto con proteínas motoras, las transporta al lugar de fusión (Figura 3). En las sinapsis se ha propuesto el modelo “Kiss and run”, por el que la vesícula no se fusiona completamente con la membrana, sino que forma un poro que se comunica con el exterior celular. Libera su contenido y el poro se cierra, quedando la vesícula vacía en el citosol^{9,14}.

En los terminales presinápticos del sistema nervioso los lugares de exocitosis están muy alejados del aparato de Golgi. Por ello la liberación exclusiva de vesículas desde el TGN es ineficiente, siendo necesario un reciclado de vesículas para asegurar la exocitosis permanente⁹. El contenido vesicular es reciclado y se devuelve a la membrana mediante el mecanismo “back-fusion” encontrado en las sinapsis de las neuronas. Mediante el reciclaje desde endosomas hacia la superficie celular se controla la abundancia y distribución de receptores de superficie, entre los que se incluyen receptores esenciales para la neurotransmisión y la plasticidad sináptica¹⁷.

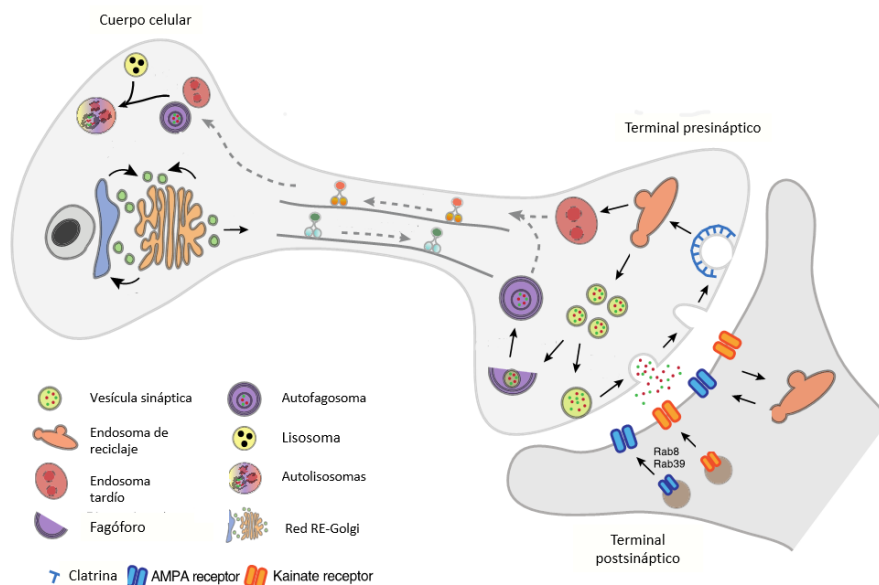


Figura 3. Transporte vesicular en neuronas. Modificado de ¹⁷.

3. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y TRÁFICO INTRACELULAR

3.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

3.1.1 Definición de la enfermedad

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo más común de demencia (50-75%)¹ y se caracteriza por ser un trastorno neurodegenerativo crónico y progresivo que generalmente comienza con un fallo de la memoria sutil y poco reconocido (a menudo llamado deterioro cognitivo leve o DCL) y lentamente se vuelve más grave y, eventualmente, incapacitante¹⁸. La demencia es un síndrome progresivo de deterioro global de las funciones intelectuales (de la memoria y de al menos otra como lengua, gnosias, praxias o función ejecutiva) adquiridas previamente, con preservación de nivel de vigilancia, que interfiere en el rendimiento laboral o social del individuo y le hace perder su autonomía personal¹⁹. Aunque inicialmente la sintomatología solo incluye pérdidas sutiles de memoria y cambios de comportamiento, avanza de manera insidiosa hacia el cuadro de demencia. La cognición disminuye, el lenguaje se interrumpe y los cambios de comportamiento se agravan, interrumpiendo la independencia del individuo⁴. A nivel neuropatológico, la EA se caracteriza por la presencia de placas amiloides extracelulares, de ovillos neurofibrilares de la proteína Tau hiperfosforilada intraneuronales, la pérdida de neuronas en el hipocampo y corteza entorrinal y la proliferación de astrocitos (Figura 4). La aparición de la enfermedad de Alzheimer puede **ser de inicio temprano o de inicio tardío**. Aproximadamente el 95% es de inicio tardío (edad > 60-65 años), también llamada enfermedad de Alzheimer esporádica, y el 5% es de inicio temprano (edad <60-65 años), también llamada enfermedad de Alzheimer familiar^{18,20}.

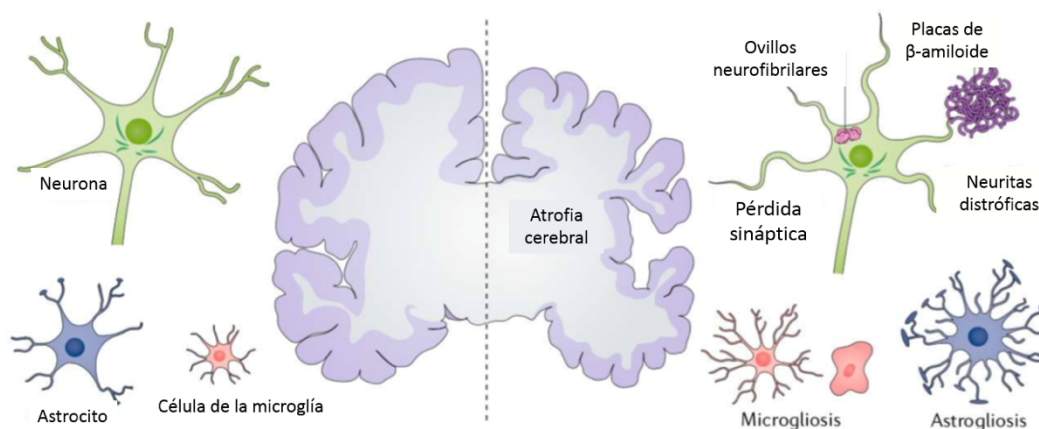


Figura 4. Características patológicas de la enfermedad de Alzheimer. La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por atrofia cerebral con pérdida sináptica y neuronal. A nivel microscópico, se observa depósitos de placas de β -amiloide extracelular y ovillos neurofibrilares intraneuronales, en asociación con neuritis distróficas, así como microgliosis y astrogliosis. Figura modificada de ²⁰.

3.1.2 Epidemiología

La prevalencia de la enfermedad de Alzheimer se encuentra entre el 5-8% para mayores de 60 años y se duplica cada 5 años aproximadamente a partir de los 65 años de edad¹ (Figura 5). Se cree que alrededor de un 10-15% de los pacientes que padecen deterioro cognitivo leve desarrollarán demencia cada año⁴.

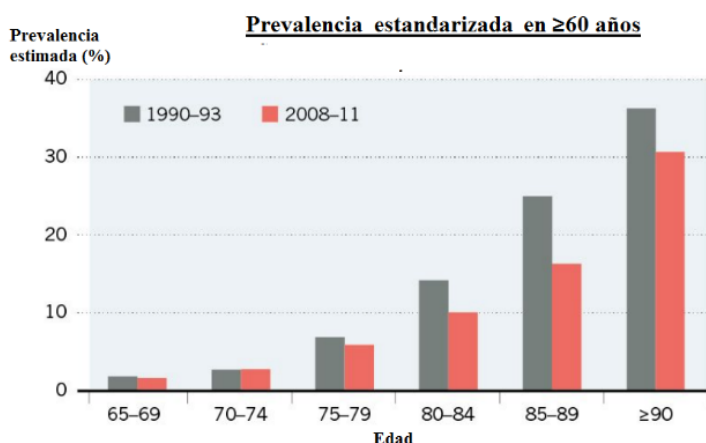


Figura 5. Prevalencia estandarizada en mayores de 60 años. Se puede ver cómo la prevalencia aumenta de forma exponencial con la edad. Figura actualizada de ⁴.

En España la prevalencia se sitúa entre un 8,5% y un 9,4% en los mayores de 70 años. Los datos del proyecto ZARADEMP (ZARagoza DEmentia DEpression Project) muestran que no hay cambios significativos en la prevalencia de demencia a lo largo del tiempo, salvo una ligera disminución en los hombres. De acuerdo con este proyecto, la incidencia española de demencia fue de 8,6 por 1000 personas/año, mientras que la específica de enfermedad de Alzheimer fue de 5,4 por 1000 personas/año²¹.

3.1.3 Etiología

Entender la etiología de la enfermedad de Alzheimer sería de gran ayuda para el diagnóstico y la terapia de la enfermedad. La EA es generalmente considerada una enfermedad multifactorial y la etiología exacta de la EA se desconoce. Se considera que es el resultado de complicadas interacciones entre múltiples factores, como el envejecimiento, la genética y los factores ambientales²².

Envejecimiento: La mayoría de los casos de Enfermedad de Alzheimer (95%) son de inicio tardío y comienzan a partir de los 60-65 años y el 5% es de inicio temprano (edad <60-65 años)¹⁸. Además, el riesgo de padecer la enfermedad se duplica cada 5 años a partir de esta edad. Por lo tanto, la edad se mantiene como el factor de riesgo no genético más fuerte²³.

Factores genéticos: Investigaciones realizadas en los últimos 25 años han mostrado que la genética juega un papel esencial en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. La tecnología de secuenciación de última generación (NGS) ha ayudado a mapear la información genética en enfermos de Alzheimer. Un gran porcentaje de casos son causados por alelos polimórficos que aumentan la susceptibilidad. Se cree que alrededor del 70% del riesgo de enfermedad de Alzheimer es atribuible a factores genéticos^{22,24}.

Los primeros genes identificados fueron los que causan la **enfermedad de Alzheimer de inicio precoz** mediante análisis genéticos de familias que padecen la enfermedad. Se descubrieron primero las mutaciones autosómicas dominantes en tres genes relacionados con el

procesamiento de β -amiloide: **presenilina 1 (PSEN1)**, **presenilina 2 (PSEN2)** y la **proteína precursora de amiloide o APP**. El β -amiloide, es un péptido que se genera por la escisión secuencial de APP por las proteasas β - y γ -secretasas. Las proteínas PSEN1 y PSEN2 llevan a cabo la función principal del complejo de la γ -secretasa. Alrededor de un 1% de los casos de enfermedad de Alzheimer están causados por estas mutaciones⁴. La penetrancia de las mutaciones de los genes APP y PSEN1 es muy alta, próxima al 95%. Sin embargo, las mutaciones del gen PSEN2 es más baja y el comienzo de la enfermedad se puede retrasar hasta los 85 años¹⁹.

Los genes implicados en la **enfermedad de Alzheimer de inicio tardío** se han identificado además de con estudios genéticos familiares, también mediante estudios de GWAS y secuenciación del genoma/exoma completo. En los casos esporádicos los alelos de susceptibilidad afectan a una amplia variedad de vías celulares, siendo el gen **APOE** es el mayor factor de riesgo para padecerla. Hay tres isoformas mayoritarias de APO ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$) Las personas que son portadoras del alelo $\epsilon 4$ de forma heterocigota tienen una proporción de probabilidad de 3 respecto a los no portadores de padecer la enfermedad de Alzheimer, mientras que los homocigotos multiplican su riesgo por 12¹. La edad y el genotipo ApoE son dos de los factores de riesgo más importantes en la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío. En pacientes con enfermedad de Alzheimer la frecuencia del alelo $\epsilon 4$ se incrementa hasta el 40%, y el $\epsilon 2$ está reducido hasta el 2%¹⁹. El alelo $\epsilon 4$ aumenta el riesgo de la aparición temprana de la enfermedad, pero no modifica su progresión. Así como el alelo $\epsilon 4$ se relaciona con aumento de riesgo, el alelo $\epsilon 2$ tiene un efecto protector, tanto en población general, como en las variantes hereditarias por mutaciones en el gen PSEN2^{19,25}.

Los estudios de GWAS (“Genome-wide association study”) han identificado más de 30 factores de riesgo genéticos para la EA de aparición tardía. Estos se relacionan con los siguientes procesos celulares: la respuesta inmune, el metabolismo de lípidos, la función de la sinapsis, la función del citoesqueleto y el transporte axonal, el metabolismo de la proteína Tau, la adhesión celular y el transoporte endosomal (Tabla 1)²². GWAS es una técnica que permite investigar numerosas regiones del genoma humano y detectar un número considerable de marcadores genéticos. A través de ellos se pueden identificar asociaciones estadísticamente significativas entre cientos de genes y enfermedades complejas como la EA, lo que contribuye a incrementar del conocimiento sobre las bases moleculares implicadas principalmente en la predisposición a padecerlas²⁶.

Otros factores: El hecho de que el 95% de los casos de EA sean esporádicos de aparición tardía de causas desconocidas y que estudios con gemelos han mostrado que la heredabilidad de la EA sea aproximadamente el 58%²⁷, sugiere que además de los factores genéticos hay otros factores que influyen en la aparición de la enfermedad. Estos podrían ser factores ambientales, factores epigenéticos y mutaciones somáticas. De hecho, un estudio de gemelos idénticos discordantes para la EA muestra una reducción en la metilación del ADN en los núcleos neuronales del neocortex temporal del gemelo afectado por la EA²⁸. Se han identificado también como factores de riesgo el consumo de dietas ricas en grasas, la diabetes mellitus y la aterosclerosis²³. Además, se ha observado que la incidencia global de la enfermedad de Alzheimer en mujeres puede llegar a ser el doble que en los hombres, lo que sugiere que las hormonas y el estilo de vida influyan en el desarrollo de la enfermedad²⁹. Por otro lado, se ha propuesto que la educación y el ejercicio físico puede que protejan frente a la enfermedad, mientras que la hipertensión y la diabetes podrían ser contraproducentes³⁰.

Por ello, se ha sugerido la posibilidad de reducir el riesgo de demencia para generaciones futuras variando el estilo de vida y la exposición a factores de riesgo²¹.

Tabla 1. Función de los genes implicados en la enfermedad de Alzheimer^{22,31}.

	POSIBLE FUNCIÓN	GEN
EA DE INICIO PRECOZ	Producción y degradación de β -amiloide	APP, PSEN1, PSEN2
EA DE INICIO TARDÍO	Respuesta Inmune	TREM2, CLU, CR1, ABCA7, CD33, EPHA1, MS4A gene cluster, DRB5/HLA-DRB, INPP5D, MEF2C
	Metabolismo de lípidos	CLU, APOE, ABCA7, SORL1
	Función sináptica	PICALM, CD33, CD2AP, EPHA1, BIN1, PTK2B, BIN1,
	Función del citoesqueleto y transporte axonal	NME8, CELF1, CASS4
	Metabolismo de la proteína Tau	FERMT2, BIN, CASS4
	Adhesión celular	PTK2B
	Transporte endosomal	BIN1, PICALM, SORL1, VPS35, VPS26, SNX3, Rab7a,

3.1.4 Manifestaciones clínicas

Existe heterogeneidad entre las diversas formas de Enfermedad de Alzheimer. Esta es más evidente entre las formas familiares y la forma esporádica común. Las diferencias entre las diferentes formas reflejan la variabilidad de la distribución de las lesiones, así como las diferencias entre los pacientes. Se trata de una enfermedad de inicio insidioso y progresión lenta hacia la demencia tipo Alzheimer. La evolución natural de la enfermedad es de 5-10 años desde el inicio hasta la muerte. Consta de varias fases:

- **Fase preclínica:** el cuadro se presenta como un trastorno de la memoria episódico de manera puntual. Los pacientes son incapaces de incorporar nueva información. Pueden aparecer alteraciones sutiles de la personalidad y de la conducta. La desorientación temporal es otro síntoma precoz. Es una fase muy larga, de varios años. Se produce antes de exteriorizarse la demencia. En un primer momento hay deterioro cognitivo leve, sin que produzca discapacidad al paciente.
- **Fase de estado:** se instaura la alteración de la memoria reciente y de la capacidad de aprendizaje. Inicialmente no hay alteración de la memoria remota. En las pruebas de recuerdo diferido mejoran poco con la ayuda de claves. No son capaces de generar listas de palabras por categorías ni de nombrar objetos (anomia). Las funciones corticales se van deteriorando: afasia, apraxias, agnosias, alteración de la abstracción e ideación, falta de iniciativa, etc.
- **Fases finales:** empeoramiento de todos los déficits. Pueden aparecer signos extrapiramidales (marcha torpe, rigidez, bradicinesia generalizada...). La causa de la muerte suele ser una infección respiratoria, es decir, fallecen por las complicaciones

que van transcurriendo a lo largo del curso de la enfermedad. La muerte se produce a los 8,5 años de media tras la presentación¹.

Además del deterioro cognitivo, aparecen trastornos afectivos, de personalidad y de conducta. Aparece depresión intensa, ansiedad, alucinaciones, ilusiones, delirios, agitación o apatía, siendo esta última es el trastorno de conducta más común. Los pacientes con trastorno psiquiátrico alcanzan el 60-80%¹⁹.

3.1.5 Patofisiología y características neuropatológicas. Progresión.

La patogenia de la enfermedad cambia entre las variedades familiares y esporádicas. Sin embargo, en gran parte es una patogenia común. La neurofisiopatología de la enfermedad de Alzheimer comienza en el córtex entorrinal y en el hipocampo. Los cambios en estas zonas pueden encontrarse en estadios precoces de la enfermedad²⁵. Los pacientes con enfermedad de Alzheimer desarrollan atrofia cerebral y pérdida neuronal. La enfermedad está caracterizada por depósitos extracelulares densos de placas de amiloide y ovillos neurofibrilares^{32,23}. El depósito extracelular de placas de amiloide se compone principalmente de péptido β -amiloide ($A\beta$), que deriva del precursor de la proteína amiloide APP. Los ovillos neurofibrilares intracelulares son agregados intracelulares de proteína Tau³³, miembro de las proteínas asociadas a microtúbulos (MAP). Tau es esencial para el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos en las células neuronales. Aunque todos estos hallazgos son características neuropatológicas de la EA se encuentran en menor medida en personas ancianas no demenciadas.

La **hipótesis de la cascada de amiloide** es la hipótesis más ampliamente aceptada para explicar el mecanismo de la patogénesis de la EA. Fue planteada en 1992 por John Hardy y Gerald Higgins, quienes propusieron que el depósito y la agregación de β -amiloide para formar placas seniles era la causa de la patología. Todos los procesos subsecuentes producirían la muerte neuronal y la demencia. En una primera etapa, la proteína APP es procesada por las β - y γ -proteasas, lo que produce un péptido β -amiloide que puede oligomerizar y formar placas seniles ejerciendo efectos tóxicos en las sinapsis neuronales. En una segunda etapa, se da una respuesta glial, con activación de los astrocitos y la microglía circundante que liberan citosinas y componentes del sistema del complemento produciendo una respuesta inflamatoria. Por otro lado, se produce un estrés oxidativo y una alteración de la homeostasis del calcio, que lleva a una activación de las quinasas e inactivación de las fosfatasa, dándose entonces una hiperfosforilación de tau y la formación de ovillos neurofibrilares. Estos se acumulan en la sinapsis y en los cuerpos neuronales, provocando la muerte neuronal y un déficit de neurotransmisores (Figura 6)³⁴. Pruebas sustanciales que respaldan la hipótesis amiloide provienen del descubrimiento de mutaciones genéticas asociadas a la EA en APP y presenilina 1 y 2 (PSEN1 y PSEN2) del complejo γ -secretasa que alteran el procesamiento proteolítico de APP, dando como resultado la sobreproducción de especies de $A\beta$ tóxicas. Además, los individuos con síndrome de Down (trisomía 21) poseen 3 copias del gen APP y típicamente desarrollan neuropatología de la EA. La sobreexpresión de APP conduce presumiblemente a la producción excesiva de $A\beta$ ³¹. El papel de Tau en el desarrollo de la enfermedad también se ha asociado a la sobreproducción o reducción del aclaramiento de β -amiloide. Se descubrió que, si se inyectaban fibrillas de $A\beta$ en cerebros de ratones, estas eran capaces de promover la fosforilación de Tau, llevando al incremento de los ovillos neurofibrilares en condiciones experimentales. Las mutaciones en Tau que llevan a la

formación de los ovillos pueden llevar a alteraciones frontotemporales, pero no a la replicación de las características neurológicas de la enfermedad de Alzheimer. Los ovillos probablemente se depositen como consecuencia del incremento en la formación de A β y la formación inicial de placas²³.

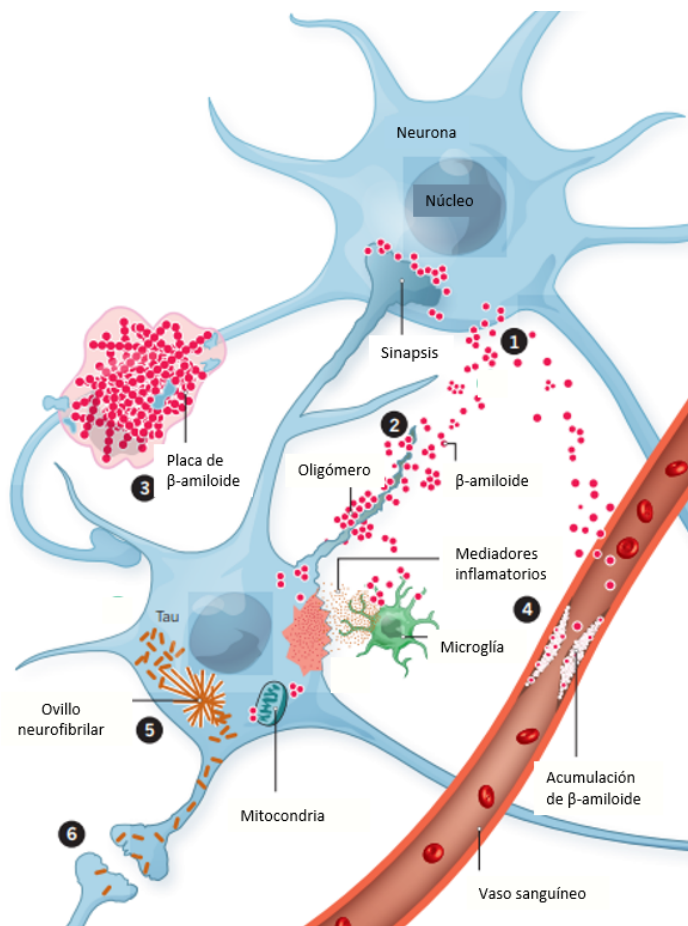


Figura 6. Mecanismos implicados en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Se ven reflejados en la figura los siguientes eventos: (1) El β -amiloide se produce por la escisión del péptido de β -amiloide a partir de la proteína de membrana APP presente en la membrana de las neuronas. (2) El β -amiloide oligomeriza en el espacio entre las neuronas y se cree que estos oligómeros provocan disrupción en la función de la sinapsis. (3) Las fibrillas de β -amiloide se agregan en placas, que interfieren con la función de las neuronas. (4) Los depósitos de β -amiloide en el medio extracelular y en los vasos sanguíneos del cerebro activan las células inmunes de la microglía, que se concentran alrededor de las neuronas afectadas. Esto desencadena la liberación de mediadores inflamatorios que pueden fomentar la pérdida de sinapsis. (5) Los agregados de Tau mal plegados se almacenan en el interior de las neuronas en forma de ovillos neurofibrilares. (6) La proteína Tau mal plegada se desplaza a través de la sinapsis a otras neuronas, donde puede catalizar el plegamiento incorrecto de más Tau. Imagen modificada de ^{4, 36}.

Progresión:

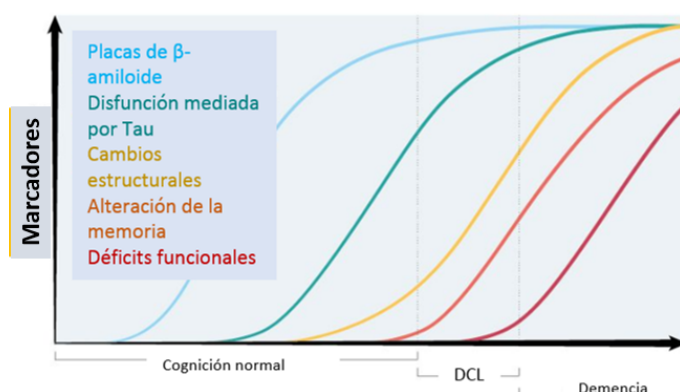


Figura 7. Progresión de la enfermedad de Alzheimer y aparición de marcadores. Los pacientes avanzan desde una sintomatología leve, con cognición normal, a una demencia, pasando por el deterioro cognitivo leve (DCL). Las placas de β -amiloide son las primeras en aumentar, seguidas de la disfunción mediada por Tau, los cambios estructurales, la alteración de la memoria y, por último, la aparición de déficits funcionales y demencia. Figura modificada de ^{4,35}.

Progresión de la enfermedad

En el momento en el que la persona comienza a padecer los síntomas de la enfermedad, el daño ya está bien establecido en el cerebro. La acumulación de β -amiloide se produce 10-15

años antes de los síntomas, mientras que la de Tau se produce más cercana al comienzo de la neurodegeneración (Figura 7)³⁵.

3.1.6 Estrategias terapéuticas actuales

El principal tratamiento sintomático de la enfermedad de Alzheimer son los inhibidores de la acetilcolinesterasa: donepezilo, rivastigmina y galantamina. Estos aumentan la acetilcolina disponible. Sus principales efectos secundarios son colinérgicos periféricos como, por ejemplo, calambres en las piernas y molestias gastrointestinales, pero generalmente son bien tolerados. Se debe evitar su uso en pacientes con defectos de la conducción cardíaca por el riesgo de producir bradicardia. Los inhibidores de la acetilcolinesterasa han demostrado efectos beneficiosos en la enfermedad de Alzheimer leve a severa, sobre todo de leve a moderada¹.

La memantina es una alternativa para el tratamiento sintomático en enfermedad de Alzheimer moderada a severa. Tiene efectos secundarios igualmente, ya que produce estreñimiento y cefaleas. Hay algunas evidencias de que disminuye la probabilidad de que los pacientes desarrollen agitación³⁶. El tratamiento combinado con memantina e inhibidores de la acetilcolinesterasa muestra una evidencia pobre en la mejoría cognitiva, sin embargo, sí mejora los síntomas conductuales en enfermedad moderada a severa³⁶.

Se deben tratar los síntomas depresivos y psicóticos asociados. El beneficio de la utilización de antidepresivos es limitado, así como el de los antipsicóticos atípicos es moderado¹.

Por lo tanto, todos los tratamientos actuales de la enfermedad son sintomáticos, y el principal objetivo debe ser encontrar una terapia etiológica de la enfermedad, que consiga frenarla y curarla.

3.2 FACTORES DE RIESGO GENÉTICOS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER VINCULADOS CON TRÁFICO VESICULAR.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la acumulación progresiva de proteínas mal plegadas, que forman placas seniles y ovillos neurofibrilares, y la liberación de mediadores inflamatorios por respuestas inmunes innatas. El tráfico de membranas desempeña un papel clave en estos procesos debido a que la generación de péptido β -amiloide, mediante el procesamiento secuencial de la proteína precursora de amiloide por las proteasas unidas a la membrana β y γ -secretasa, está regulado por el tráfico de estas proteínas a lo largo de distintas vías. Estudios de secuenciación del genoma completo han identificado varios genes de susceptibilidad a la EA que regulan los eventos de tráfico de membrana que se resumen en la Tabla 2³¹.

Tabla 2. Factores de riesgo genético de la enfermedad de Alzheimer relacionados con el tráfico vesicular³¹.

Gen	Proteína	Función propuesta	Evento de tráfico
<i>BIN1</i>	Bridging integrator 1	Curvatura de membranas Endocitosis mediada por clatrina Metabolismo de APP Biogénesis de A β	Endocitosis
<i>PICALM</i>	Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein	Curvatura de membranas Endocitosis mediada por clatrina Metabolismo de APP Biogénesis de A β	Endocitosis
<i>SorL1</i>	Sortilin protein-related receptor	Tráfico de APP Biogénesis de A β	Reciclaje endosomal
<i>VPS35</i>	Vacuolar protein sorting 35	Complejo del retrómero Tráfico de APP	Reciclaje endosomal
<i>VPS26</i>	Vacuolar protein sorting 26	Complejo del retrómero Tráfico de APP	Reciclaje endosomal
<i>SNX3</i>	Sorting nexin 3	Complejo del retrómero Tráfico de APP	Reciclaje endosomal
<i>RAB7A</i>	Rab GTPasa	Complejo del retrómero Tráfico de APP	Reciclaje endosomal

3.3 APP, BACE1 Y γ -SECRETASA: TRÁFICO INTRACELULAR Y PRODUCCIÓN DE β -AMILOIDE

APP es una proteína integral de membrana que se sintetiza en el retículo endoplasmático y pasa al Aparato de Golgi, donde sufre procesamientos como glicosilación y fosforilación. A continuación, es empaquetada en vesículas que la transportan a la membrana plasmática. Está implicada en diversos procesos neuronales, como la diferenciación neuronal, la migración, el crecimiento de neuritas y la formación de sinapsis. APP puede ser procesada siguiendo dos rutas que estarán determinadas por la escisión proteolítica secuencial por 3 proteasas (α , β , y γ -secretasas): la ruta no amiloidogénica o la ruta amiloidogénica (Figura 8A). La ruta no amiloidogénica se da predominantemente en la membrana plasmática por la abundancia de α -secretasa y a la amiloidogénica en compartimentos intracelulares³⁷.

La ruta no amiloidogénica es la ruta predominante para el procesamiento de APP y excluye la producción de A β . En esta ruta la α -secretasa realiza un corte en la proteína APP y como consecuencia se secreta el dominio soluble N-terminal sAPP α y se queda anclado a la membrana el dominio C-terminal α CTF. sAPP α actúa como un neuroprotector y se encarga de la regulación de la proliferación de células madres neurales y del desarrollo del SNC. α CTF es cortado por la γ -secretasa generando un pequeño péptido p3 y un fragmento intracelular de APP, AICD. Actualmente no se conocen funciones fisiológicas de estos fragmentos y tampoco tienen ningún efecto patológico conocido. Esta ruta previene la formación del péptido y placas amiloides^{23,33,34}.

La ruta amiloidogénica comienza en las neuronas por escisión de APP por β -secretasa (también denominada BACE1), cuyos productos incluyen el fragmento soluble N-terminal sAPP β y el C-terminal β -CTF unido a la membrana. Este último fragmento es un sustrato para la γ -secretasa, una enzima multiproteica que contiene presenilinas en su centro catalítico. Los productos de estas enzimas incluyen el fragmento γ -CTF y una gama de péptidos amiloides A β , siendo los más frecuentes A β ₄₀ y A β ₄₂ (de 40 y 42 residuos respectivamente)³⁸. Ambas especies son neurotóxicas e insolubles, pero el péptido A β ₄₂, aunque minoritario (supone un 10% de las dos especies) es el péptido más hidrofóbico y, por lo tanto, el más propenso a la formación de fibrillas y de las placas seniles. Los productos de A β ₄₀ y A β ₄₂ se acumulan en el espacio extracelular (Figura 8B). Se ha observado que la ratio A β ₄₀/ A β ₄₂ es un biomarcador útil en la enfermedad de Alzheimer²³.

Se conocen más de 30 mutaciones diferentes de APP relacionadas con la EA que llevan a un aumento de la producción de A β o un cambio hacia la producción de las especies tóxicas de A β . Las mutaciones en presenilinas producen un incremento de A β ₄₂ en las neuronas^{1,33,38}. En algunos casos ocurre porque el procesamiento de APP aumenta, mientras que en otras puede ocurrir como consecuencia secundaria a un aclaramiento extracelular reducido, con mayor captación neuronal. Cuando hay eliminación reducida de A β ₄₂, estas especies terminan entrando a la luz endosomal por endocitosis neuronal de forma secundaria³⁸.

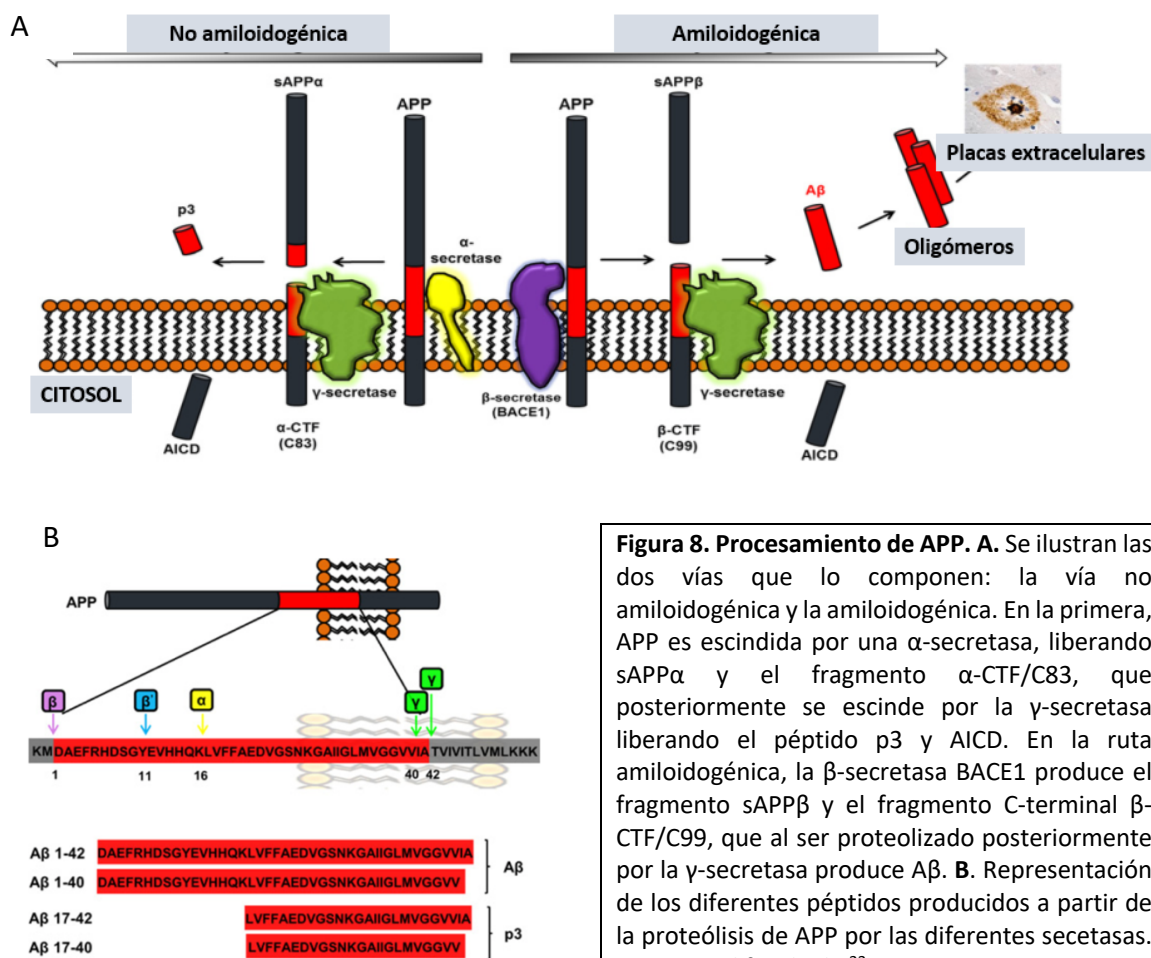


Figura 8. Procesamiento de APP. A. Se ilustran las dos vías que lo componen: la vía no amiloidogénica y la amiloidogénica. En la primera, APP es escindida por una α -secretasa, liberando sAPP α y el fragmento α -CTF/C83, que posteriormente se escinde por la γ -secretasa liberando el péptido p3 y AICD. En la ruta amiloidogénica, la β -secretasa BACE1 produce el fragmento sAPP β y el fragmento C-terminal β -CTF/C99, que al ser proteolizado posteriormente por la γ -secretasa produce A β . B. Representación de los diferentes péptidos producidos a partir de la proteólisis de APP por las diferentes secretasas. Figura modificada de ²³.

BACE1 se encuentra sobre todo en el TGN y en los endosomas y es considerada la β -secretasa responsable de la amiloidogénesis en el cerebro. Los ratones BACE1^{-/-} tienen niveles muy disminuidos de A β . Por lo tanto, es una proteína clave en la generación de A β . Los ratones knockout BACE1 muestran defectos en la función sináptica y plasticidad, problemas de comportamiento y defectos en la mielinización en el Sistema Nervioso Periférico. Tiene más de 20 sustratos en las neuronas aparte de APP. Esto supone un problema para las estrategias terapéuticas³³.

La **γ -secretasa** se localiza en el retículo endoplasmático, el TGN y los endosomas. Es una proteasa con cuatro componentes: un núcleo catabólico formado por Presenilina-1 (PSEN1) o Presenilina-2 (PSEN2) y tres proteínas accesorias: Nicastrin (NCT), anterior pharynx-defective 1 (APH1A o APH1B), y el potenciador de la presenilina PEN-2. De esta forma, hay seis complejos γ -secretasas diferentes, que producen perfiles A β característicos, los cuales van a diferir en su toxicidad celular³³.

La distribución espacial de las proteínas de membrana APP, BACE1 y γ -secretasa influye en la **producción de A β** . El corte inicial de APP por BACE1 es el paso limitante del procesamiento amiloidogénico de APP y para ello tienen que converger BACE1 y APP en la misma ubicación. APP puede procesarse en múltiples compartimentos intracelulares a lo largo de las vías secretora y endocítica, pero se ha detectado mayor producción de A β en el Golgi y endosomas. Se cree que es porque la actividad óptima de BACE1 es a pH \sim 4,5 y los endosomas son compartimentos ácidos y el TGN ligeramente ácido (pH \sim 5,9). También se ha observado en ensayos celulares que la acumulación de APP o BACE1 en el TGN o en endosomas provoca que haya un aumento en la producción de A β . Por lo tanto, el tráfico y la localización intracelular de BACE1 y APP van a jugar un papel importante en la generación de péptidos A β . Para la producción de A β tiene que intervenir además de APP y BACE1, la γ -secretasa. En las neuronas de las ratas la actividad de la γ -secretasa se detecta predominantemente en la sinapsis y endosomas, y algo en la membrana del Golgi²³. También se detecta A β en el retículo endoplasmático, lo que se ha propuesto que es debido a la generación de productos de A β en el Golgi tardío, y el transporte subsecuente por las vías transportadoras retrógradas conocidas desde el Golgi/TGN al retículo endoplasmático. Aunque la γ -secretasa está activa en múltiples localizaciones, y puede actuar en diferentes compartimentos, la mayoría de los estudios sugieren que actúa preferentemente en los endosomas, liberando A β en el lumen de los endosomas desde donde puede ser secretado al espacio extracelular^{23,33,38}.

La **liberación de A β** hacia el medio extracelular puede ocurrir por varias vías. El A β producido en endosomas tempranos puede ser liberado por diferentes rutas de reciclaje. Se ha comprobado que el A β producido en el endosoma temprano puede ser transportado a los cuerpos multivesiculares (MVB) y empaquetado en exosomas para su secreción. Por otro lado, el A β generado en la vía secretora puede ser liberado mediante la inclusión en vesículas transportadoras del post-Golgi, que se fusionan con la superficie celular. Este transporte ha sido observado en células cromafines y se ha comprobado que puede realizarse a través de endosomas de reciclaje que contienen Rab11. También se cree que el A β puede ser transportado a la membrana plasmática para su secreción mediante autofagosomas, pero todavía se desconoce el mecanismo. Hay pocos estudios realizados en neuronas, pero estos sugieren que el A β generado en los axones podría ser liberado en los sitios presinápticos, y que el A β producido en el soma/dendritas podría ser también secretado^{23,33}.

Defectos en el tráfico intracelular se han relacionado con una mayor producción de β -amiloide. Ello parece ser debido a una acumulación intraneuronal de fragmentos de APP y BACE1 en el TGN y en los endosomas (Figura 9), lo que provoca que APP sea cortada por BACE1 con una mayor actividad en los endosomas debido a su naturaleza ácida.

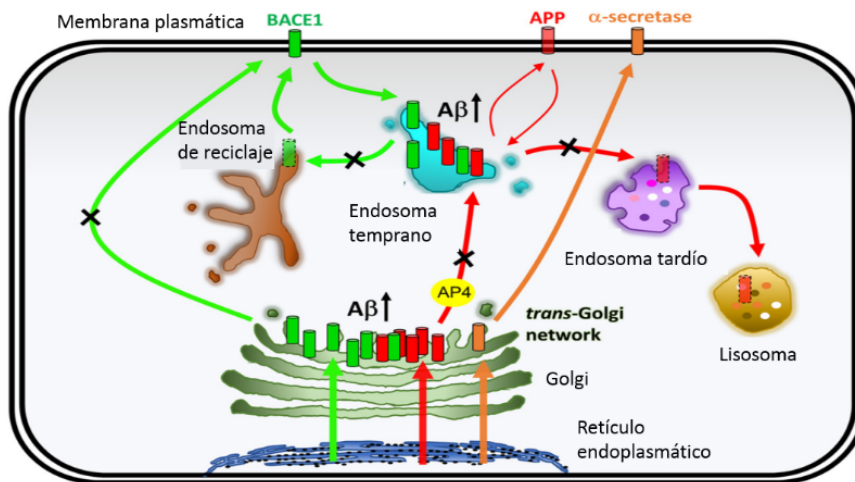


Figura 9. Impacto de la perturbación del tráfico de APP y / o BACE1. El bloqueo del transporte de APP o BACE1 desde los endosomas tempranos o el TGN, provoca una acumulación en estos compartimentos y debido a su naturaleza ácida se favorece el procesamiento de APP por BACE1. La identidad del péptido A β generado es probable que dependa de la isoforma de la γ -secretasa presente en cada compartimento. Modificado de ³³.

3.4 DEFECTOS EN LA ENDOCITOSIS RELACIONADOS CON LA EA

Una serie de variantes de genes que regulan el tráfico endocítico han sido identificadas a través de estudios genéticos de enfermos de Alzheimer de inicio tardío, entre los que se incluyen BIN1 y PICALM. Ambos genes se encuentran entre los 10 principales genes de riesgo en la base de datos AlzGene (<http://www.alzgene.org>).

BIN1 (Bridging integrator 1) es una proteína implicada en la endocitosis mediada por clatrina. Contiene múltiples isoformas ubicuamente expresadas en el cerebro y el músculo. Las isoformas 1 a 7, expresadas especialmente en el sistema nervioso central, participan en la endocitosis mediada por clatrina, a través de su unión al complejo del adaptador AP-2. Se ha encontrado en pacientes con EA una agrupación de polimorfismos de alto riesgo localizados aguas arriba del gen, que apuntan hacia un posible efecto en la transcripción ya que tales variantes *BIN1* producen una expresión elevada de BIN1 en el cerebro. La metilación del ADN del promotor de *BIN1* se ha sugerido también como un posible mecanismo epigenético que influye en el riesgo de la EA. Además, se ha propuesto que BIN1 puede modular la patogénesis relacionada con tau. Recientemente, se ha observado también que BIN1 podría influir en la modulación del tráfico intracelular de BACE1 y el metabolismo de la APP^{22,24}.

PICALM (Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein) es una proteína accesoria en la vía endocítica que se expresa de forma ubicua con niveles particularmente altos en las neuronas. Se une a la clatrina y sus proteínas adaptadoras, y regula la formación de la red de

clatrina durante la endocitosis. PICALM desempeña un papel clave en la transmisión sináptica por el tráfico de VAMP2. Estudios en modelos de cultivo celular y ratones revelaron que PICALM facilita la producción de A β mediante la internalización de APP, pero la eliminación de PICALM afecta a la internalización de APP y reduce la producción y liberación de A β . Por lo tanto, PICALM es considerado como un regulador clave de la producción de A β en el cerebro. Además, PICALM podría actuar a través de los efectos sobre la endocitosis y el tráfico de otras moléculas importantes para la función neuronal. PICALM se identificó en uno de los primeros estudios GWAS para la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío y varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), dentro y alrededor del gen PICALM, se han asociado con la EA. Sin embargo, las variantes patógenas y los mecanismos subyacentes por los cuales afectan el riesgo de EA de una persona siguen siendo desconocidos^{22,24}.

3.5 ATASCOS EN LOS ENDOSOMAS Y LA RUTA DE RECICLAJE RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

AGRANDAMIENTO DE ENDOSOMAS EN EA. Al analizar postmortem bajo el microscopio secciones del cerebro de afectados por la enfermedad de Alzheimer se observó que los endosomas tempranos estaban marcadamente agrandados. Esto sugiere que la ruta endosomal está alterada, que puede ser debida por una desregulación de la vía endocítica, endocitosis acelerada o un transporte alterado de los endosomas. Estas aberraciones endosómicas constituyen la citopatología cerebral más precoz detectada ya que surgen antes de que la disfunción cognitiva sea evidente en los enfermos de Alzheimer esporádico. Junto con las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares, los endosomas agrandados se han convertido en un sello citopatológico de la enfermedad³⁸. Se han utilizado marcadores de internalización (Rab5, Rabaptin 5) y de reciclaje (Rab4) para estudiar este hallazgo (Figura 10). Se observó que tanto la captación endocítica como el reciclaje estaban activados²⁵. Estas anomalías se evidenciaron en las neuronas piramidales del neocórtex en estadios preclínicos de la enfermedad, cuando la neuropatología de la enfermedad, como por ejemplo el depósito de A β , se restringía a la región entorrinal²⁵. Estos agrandamientos de los endosomas se han relacionado con una sobreactivación de la GTPasa Rab5 presente en la superficie de los endosomas. En cultivos de fibroblastos y neuronas se puede inducir esta anomalía por sobreexpresión de Rab5 y revertirla disminuyendo su expresión.

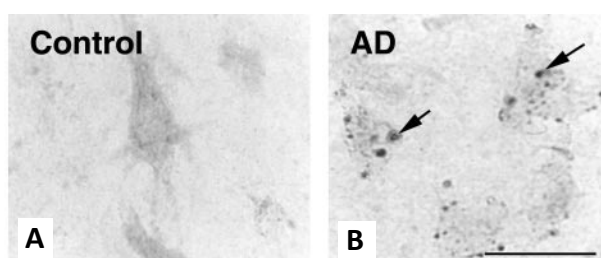


Figura 10. Agrandamiento de endosomas en cerebros pre-EA, antes de desarrollar síntomas clínicos. En neuronas piramidales del cortex prefrontal de pre-AD (B) se observa mayor cantidad de rabaptin5 (por inmunorreactividad), un marcador de endosomas, que en las neuronas del cerebro control (A)²⁵.

Hasta hace poco se consideraba que la causa de estos “atascos” reflejaban una consecuencia de la acumulación intracelular de fragmentos de APP, que ocurre en todas las formas de enfermedad de Alzheimer³⁸. Pero se ha demostrado que la herencia del alelo $\epsilon 4$ de APOE acentuaba el agrandamiento de endosomas tempranos en etapas preclínicas de la enfermedad. Los pacientes con dos alelos APOE $\epsilon 4$ tenían un volumen endosomal/neurona

un 50% más grande que los que tenían otros alelos. La endocitosis alterada no es una consecuencia del depósito de A β . Esta endosomopatía parece ser específica de la enfermedad de Alzheimer y no aparece en otras enfermedades neurodegenerativas. Sólo se ha observado también este fenotipo en pacientes de Niemann-Pick tipo C1 (NPC1), una enfermedad de almacenamiento lisosomal congénita que también presenta otras lesiones asociadas con la EA como taupatía, pequeños depósitos de amiloide y neurodegeneración colinérgica.

GEN APOE Y ALTERACIONES DEL TRÁFICO ENDOSOMAL. La apolipoproteína humana (Apo) E es una lipoproteína mayor responsable de la homeostasis del colesterol. Influye en la producción, distribución y aclaramiento del péptido β -amiloide¹⁹. La frecuencia del alelo APOE ϵ 4 en la predisposición a enfermedad de Alzheimer está bien establecida. Sin embargo, el rol de esta isoforma de ApoE en la patogénesis de la enfermedad no está claro. La relación con la enfermedad de Alzheimer es inespecífica, ya que puede ser un factor de riesgo de mala evolución de muchas otras agresiones, como por ejemplo los traumatismos, los ictus u otras demencias¹⁹. El efecto principal del aumento de la frecuencia del alelo APOE ϵ 4 es la reducción del aclaramiento de A β extracelular. El incremento de la concentración del A β extracelular produce un aumento del intracelular. En estudios postmortem se observa que el genotipo *APOE4* empeora el agrandamiento de los endosomas en las neuronas con enfermedad de Alzheimer, en regiones relativamente libres de placa de amiloide. Se ha sugerido que podría alterar del tráfico endosomal independientemente del amiloide, porque un estudio muestras que APOE4 reduce el reciclado endosomal de la carga a la superficie de las células neuronales y otro estudio sugiere que APOE4 podría acelerar la endocitosis en el endosoma. Dado que APOE4 ejemplifica la clase de genes del metabolismo del colesterol, se ha propuesto que el metabolismo del colesterol se vincule a los atascos de tráfico endosomal afectando el A β extracelular o afectando directamente el tráfico hacia los endosomas o fuera de ellos³⁸.

ALTERACIONES DEL RECICLAJE ENDOSOMAL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. Se considera que defectos en el reciclaje de proteínas en los endosomas es importante en el desarrollo de la EA por estudios realizados con el **retrómero**, un complejo proteico que va a seleccionar proteínas integrales de membrana presentes en los endosomas y transportarlas con la ayuda de proteínas accesorias en tubulovesículas a la membrana plasmática o al TGN. El retrómero se relacionó por primera vez con la enfermedad de Alzheimer en un estudio de perfiles moleculares en cerebros post mortem de pacientes. Se observó una expresión reducida de dos proteínas del retrómero, **VPS26** y **VPS35** en el circuito del hipocampo, el córtex entorrinal¹⁴. Se sugirió que este perfil proteico era independiente del envejecimiento³⁹. Estudios en modelos animales han corroborado firmemente que la expresión reducida del retrómero predispone a la patología de la enfermedad de Alzheimer.

Los defectos en la actividad del retrómero se han relacionado con EA por tres características de su actividad. Primero, la recuperación y el reciclaje endosómicos de diversas proteínas por el retrómero mantiene y remodela activamente el proteoma de la superficie de las neuronas, lo que influye en procesos esenciales para la salud neuronal, como la transmisión sináptica, el suministro de nutrientes y las interacciones con las neuronas circundantes y la matriz de soporte. Por ejemplo, uno de los cargos del retrómero es el receptor del glutamato. El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio del cerebro. Defectos en el tráfico del retrómero provocan una disminución del receptor de glutamato y una disfunción sináptica. En segundo lugar, el retrómero recupera y transporta de los endosomas al TGN los receptores de hidrolasas lisosomales (CIMPR), de tal manera que puedan unir de nuevo hidrolasas ácidas

en el TGN antes de ser transportadas de nuevo a los endosomas. De esta manera hay una administración eficiente de hidrolasas a los endosomas y se mantiene la capacidad lisosomal para degradar los agregados de proteínas y los orgánulos disfuncionales que se acumulan. Se ha demostrado que la disfunción del retrómero reduce el suministro adecuado de proteasas al sistema endosomal-lisosomal, que es un estado patofisiológico relacionado con varios trastornos cerebrales y que puede influir en la reducción de la eliminación de A β intracelular. En tercer lugar, la eficiencia de la recuperación y el reciclaje definen el tiempo de residencia en los endosomas del cargo. BACE1 y SORL1 (que une APP) son cargos transportados por el retrómero. Deficiencias en el retrómero provocan que estas proteínas BACE1, SORL1 y APP residan más tiempo en los endosomas y como consecuencia se aumente el procesamiento patogénico de APP⁴⁰.

Además, la implicación de defectos de la actividad de retromer en la enfermedad se ha confirmado en los estudios GWAS⁴¹. Hay variantes génicas de las proteínas encargadas de la unión del retrómero a los endosomas asociadas a la enfermedad de Alzheimer, incluyendo SNX3 y RAB7A^{14,42}. Además, también se observaron que proteínas integrales de membrana transportadas por el retrómero como SORL1 y TREM2 tenían variantes asociadas con la enfermedad⁴³.

SNX3 Y RAB7 se han asociado con la EA debido a que hay evidencias significativa de asociación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en estos genes con la enfermedad de Alzheimer⁴². Ambas proteínas interactúan con el retrómero y juegan un papel importante en su asociación con endosomas. La pérdida de la función de SNX3 o RAB7A resulta en una reducción en el retrómero asociado a endosomas. Además estudios en células indican que la sobreexpresión de SNX3 altera la producción de A β , debido a que hay una menor asociación de APP con BACE1⁴⁴.

SORL1 ha sido ampliamente investigada, ya que su alteración multiplica por cinco el riesgo de enfermedad de Alzheimer, un aumento similar al aportado por APOE4^{38,45}. Estudios que se han llevado a cabo recientemente sugieren que las mutaciones raras de SORL1 son en realidad mutaciones causales, similares a las mutaciones autosómicas dominantes en APP o PSENs. SORL1 interactúa con APP, por lo que se supone que el retrómero va a transportar ambas proteínas juntas. Y por ello los defectos en el reciclado de SORL1 van a influir en el reciclado de APP⁴⁶.

TREM2 se localiza en la superficie celular de la microglía y se une a β -amiloide extracelular, promoviendo así su eliminación y evitando su propagación intercelular. Por ello defectos en el retrómero se han visto implicados en las anomalías de la microglía, también relacionadas con la enfermedad de Alzheimer⁴⁷.

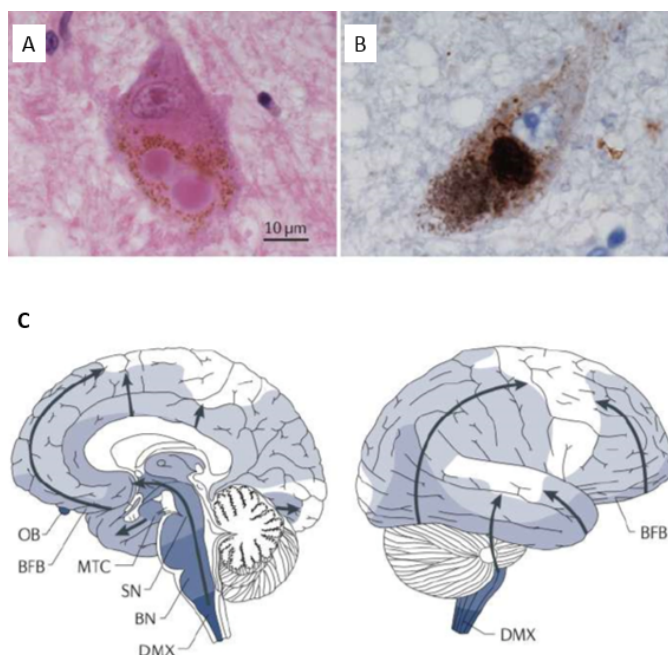
4. ENFERMEDAD DE PARKINSON Y TRÁFICO INTRACELULAR

4.1 ENFERMEDAD DE PARKINSON

4.1.1 Definición de la enfermedad

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente y la enfermedad neurodegenerativa del movimiento más común. Fue descrita en 1817 por el médico británico James Parkinson como la “shaking palsy” (parálisis temblorosa), y más adelante, Jean-Martin Charcot le puso su nombre en reconocimiento a su trabajo¹⁰. Esta enfermedad está caracterizada por un deterioro insidioso del movimiento y una variedad de síntomas no motores. Además, también está asociada con alteraciones del estado de ánimo, del sueño y con trastornos cognitivos⁴⁸. Se caracteriza por la coexistencia de un síndrome rígido-acinético y temblor de reposo, con una pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra (SN) y la presencia de inclusiones neuronales denominados cuerpos de Lewy en la SN. Los cuerpos de Lewy son agregados proteicos formados por alfa-sinucleína anormal. La α -sinucleína anormal se pliega y forma fibrillas insolubles que se depositan en el citoplasma de las neuronas (cuerpos de Lewy) y en las neuritas (neuritas de Lewy)^{49,50} (Figura 11).

La enfermedad de Parkinson puede clasificarse en esporádica o familiar. El 90% de los casos de enfermedad de Parkinson son esporádicos de etiología desconocida.



4.1.2 Epidemiología

A nivel mundial, la enfermedad de Parkinson afecta a un 1% de los mayores de 65 años, a todas las razas y a ambos sexos, con un ligero predominio masculino, sobre todo a partir de los 70 años. La proporción de hombres y mujeres afectadas por la enfermedad es de aproximadamente 3:2⁵¹. La incidencia anual es de 10-18 casos nuevos/100000 habitantes, y el pico de incidencia se sitúa en la sexta década de la vida. La prevalencia es mayor unos 160

casos/100000 habitantes y aumenta con la edad: 0,6 casos por cada 100 personas entre 65-69 años; y 5 casos por cada 100 entre 85-89 años⁴⁹. Debido a que la esperanza de vida tiene una tendencia al aumento se calcula que, en todo el mundo, nueve millones de personas padecerán la enfermedad de Parkinson en 2030⁴⁸.

En España, el estudio NECIDES (Neurological Disorders in Central Spain) mostró una incidencia de demencia-Parkinson de 0,9 por 1000 personas/año en la población mayor de 65 años²¹.

4.1.3 Manifestaciones clínicas

La enfermedad de Parkinson es conocida principalmente por sus **síntomas motores** cardinales: hipocinesia, temblor de reposo o rigidez. Estos suelen presentarse en un hemicuerpo predominante inicialmente. Sin embargo, posteriormente al diagnóstico de la enfermedad se reconocen los **síntomas de la fase premotora o prodrómica**: hiposmia, disautonomía (estreñimiento, hipotensión ortostática, disfunción urinaria y eréctil), somnolencia diurna, alteración del sueño REM y trastornos afectivos y ansiedad. Esto concuerda además con las lesiones precoces del bulbo olfatorio o del tronco cerebral. El valor predictivo negativo de esos síntomas es superior al 90%, mientras que el valor predictivo positivo es menor del 60%.

Los síntomas motores principales de la enfermedad de Parkinson son los siguientes:

Bradicinesia: lentitud para efectuar movimientos, disminuyendo la amplitud y el ritmo de estos. Comienza con una dificultad para los movimientos finos que va progresando. También es llamativa la falta de braceo al andar. Además, disminuyen los movimientos automáticos.

Rigidez en rueda dentada: dificultad para el desplazamiento de las articulaciones.

Temblor de reposo: principalmente de las extremidades, con una frecuencia de 4-6 Hz y de predominio distal. También es frecuente el temblor cefálico y el de la mandíbula^{49,52,53,54}.

4.1.4 Patofisiología y características neuropatológicas. Progresión.

En la enfermedad de Parkinson se produce una pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas de la pars compacta (sustancia negra), de neuronas del área tegmental ventral y de axones terminales que proyectan al estriado dorsal (vía mesoestriatal, caudado-putamen)⁴⁸. La pérdida neuronal es del 50-90% en los primeros años de la enfermedad⁴⁹.

La clínica motora se relaciona con la pérdida neuronal en la sustancia negra, pero no necesariamente con la densidad de las inclusiones anormales. No todas las neuronas dopaminérgicas son igual de susceptibles en la patología de la enfermedad. La susceptibilidad es máxima en la SN compacta. La diferencia se atribuye a las propiedades de descarga continua como marcapasos de las neuronas de la SN, lo que aumenta su vulnerabilidad⁴⁹.

Progresión.

La enfermedad aparece inicialmente en regiones inferiores del tronco cerebral (núcleo motor dorsal del nervio vago) y se va haciendo más rostral, hasta que alcanza las regiones más anteriores del cerebro¹¹ (Figura 12).

Según la *estadificación patológica de Braak*, un sistema de seis niveles basado en la presencia de cuerpos de Lewy, se sugiere que hay una progresión desde los núcleos medulares y olfativos hasta el neocórtex que ocurre como sigue¹⁰:

- Estadio I: los cuerpos de Lewy están confinados al bulbo olfatorio y el núcleo motor dorsal del nervio vago.
- Estadio II: los cuerpos de Lewy ascienden en el tronco cerebral, que llega a la médula oblongata y al tegmento pontino, partes del cerebro que controlan la deglución, el sueño y otras funciones autónomas afectadas en la enfermedad de Parkinson.
- Estadios III y IV: comienzan a aparecer en la amígdala, encargada del procesamiento de emociones y discriminación de olores. También aparecen en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. Comienzan a manifestarse los síntomas motores.
- Estadios V y VI: la patología se distribuye por todo el neocórtex, lo que provoca la aparición de la demencia.

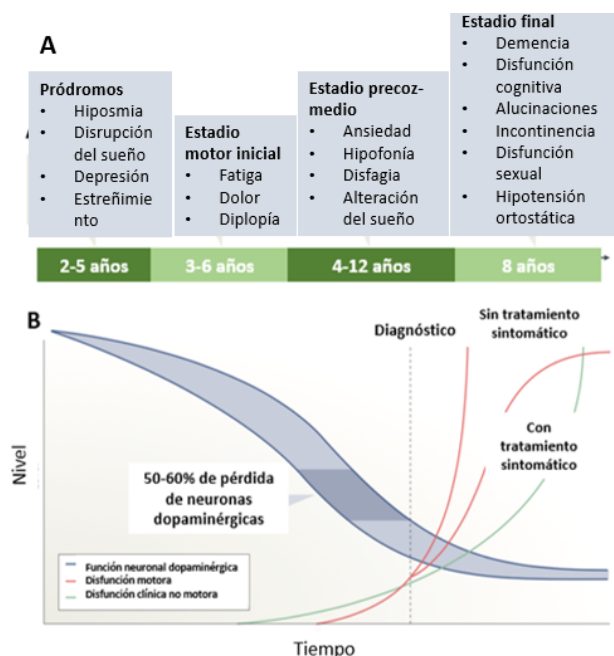


Figura 12. Progresión de la enfermedad de Parkinson. A. Aparición de la clínica motora y no motora en la enfermedad de Parkinson. Se puede ver en el esquema que los síntomas no motores pueden desarrollarse en la fase prodrómica, varios años antes de la aparición de la clínica motora. El tiempo de evolución es variable, siendo necesarias las características motoras para realizar el diagnóstico de la enfermedad. Los síntomas no motores y autonómicos se pueden mantener más adelante y progresar. **B.** Representación gráfica del desarrollo de la enfermedad, así como de la disfunción neuronal dopaminérgica. Las características motoras aparecen cuando se ha producido aproximadamente un 50-60% de la pérdida neuronal. El tratamiento sintomático mejora la función motora, pero la mayoría de las funciones no motoras no se ven afectadas por la terapia de reemplazo de dopamina. Figura modificada de ⁴⁹.

4.1.5 Etiología

Actualmente la etiopatogenia de la Enfermedad de Parkinson se desconoce. Pero la comunidad científica propone que el origen de la enfermedad se debe a una interacción entre el envejecimiento, factores genéticos y ambientales, que afectan a numerosos procesos celulares fundamentales. Sin embargo, todavía se desconoce cómo estos factores inducen la aparición y el progreso de la enfermedad. En los últimos años se ha identificado que defectos genéticos que afectan al tráfico intracelular suponen un factor de riesgo importante de la enfermedad. Los mencionados factores de riesgo se describen a continuación.

Edad y degeneración neuronal.

La pérdida natural de neuronas debida al envejecimiento se aprecia a partir de los 40 años, aunque se considera poco probable que esta reducción en la cantidad de neuronas

dopaminérgicas llegue a ser sintomática. Sin embargo, diversos estudios muestran que la edad es un factor de riesgo para padecer la EP, mientras que las formas juveniles (en menores de 30 años) y precoces (entre los 30 y 40 años) de la enfermedad son excepcionales.

Ello indica, por tanto, que aspectos relacionados con la capacidad funcional y no directamente con la cantidad de neuronas, han de contribuir al desarrollo de la enfermedad. Así, pues parece que los principales aspectos clave que definen la susceptibilidad neuronal para la enfermedad de Parkinson son: la longitud axonal, el calibre axonal y el grado de mielinización. Las neuronas motoras corticales tienen axones relativamente largos, pero son de alto calibre y están muy mielinizados, por lo que están relativamente protegidos en la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, la mayoría de los núcleos subcorticales (principalmente en la SN compacta) tienen axones delgados, ligeramente mielinizados, y desarrollan patología de Lewy⁴⁸.

Otros factores que contribuyen a la mayor susceptibilidad de las neuronas dopaminérgicas al envejecimiento son la mayor producción de radicales oxidativos en su metabolismo y que la reserva neuronal de la sustancia negra es baja.

Causas genéticas.

La contribución de la genética a la enfermedad de Parkinson es sugerida por el mayor riesgo de padecer la enfermedad en individuos con antecedentes familiares. Esto ha sido inferido de:

- Estudios genéticos de mutaciones familiares: estudios genéticos realizados en los últimos 20 años a las familias de pacientes de EP muestran que del 5 al 10% de los casos son causados por mutaciones familiares¹¹. Además, los avances de los últimos años en la secuenciación del genoma completo y del exoma han contribuido a que se identifiquen nuevas mutaciones raras heredadas causantes de la enfermedad.
- GWAS: Estos estudios buscan las variantes genéticas asociadas con la EP mediante la comparación de un gran número de genomas humanos de personas afectadas y no afectadas por la EP. En un metaanálisis realizado con más de 19.000 pacientes y 100.000 controles se encontraron 24 loci que están relacionados con un riesgo alterado de desarrollar la enfermedad. El efecto de estas variantes de manera individual es modesto (<30% de alteración del riesgo a padecer la EP), pero la combinación de múltiples variantes tiene un efecto considerable. Es decir, se está encontrando una importancia creciente de la influencia genética en los casos esporádicos⁴⁹.

Factores exógenos o ambientales.

Algunos estudios indican que el tabaco y la cafeína actúan como protectores en la enfermedad de Parkinson, debido a que la incidencia es mayor en no consumidores. Una posible explicación sería que los pacientes con la enfermedad tuvieran una menor capacidad de adicción a estas sustancias antes de manifestarse los síntomas no motores. También el consumo de fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINEs) y alcohol se ha asociado con un riesgo menor.

Por otra parte, se ha comprobado una mayor incidencia de la enfermedad en relación con la ingesta de agua de pozos, vida rural, exposición a herbicidas o insecticidas, con el proceso de

industrialización. Sin embargo, los datos mundiales muestran que no hay agrupaciones regionales, por lo que los factores ambientales no parecen ser decisivos⁴⁹.

4.1.6 Estrategias terapéuticas actuales

En los últimos años se han hecho grandes avances en el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson, pero no en su tratamiento. Hoy en día, no se dispone de fármacos que modifiquen la evolución de la enfermedad de Parkinson, siendo el tratamiento exclusivamente sintomático. Los fármacos disponibles actualmente son los siguientes:

Levodopa (L-DOPA): su introducción ha alargado la supervivencia de los pacientes un promedio de 3 a 5 años. Es el tratamiento sintomático estándar de la EP, obteniéndose una respuesta rápida y espectacular en el 20% de los casos de enfermedad de Parkinson idiopática. Sus principales beneficios se producen a nivel del movimiento de las articulaciones proximales y axiales, más que en movimientos distales, y sobre todo a nivel motor. El fármaco se transforma en dopamina gracias a la DOPA-descarboxilasa, no solo a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), sino también del resto del organismo. Esto produce múltiples efectos cardiovasculares, como arritmias e hipotensión ortostática, y gastrointestinales. Por ello, debe administrarse junto a un inhibidor de la descarboxilasa como carbidopa o benserazida que, al no atravesar la barrera hematoencefálica, o hace que el efecto se dé solo a nivel del SNC. Sin embargo, esto ocurre tanto sobre estructuras dopaminérgicas como sobre estructuras no dopaminérgicas, por lo que no lleva a cabo su acción de forma fisiológica. Generalmente los pacientes tratados de forma crónica con levodopa van a padecer discinesias y trastornos mentales, como por ejemplo somnolencia, alucinaciones visuales, delirio y confusión. Esto es un reflejo de la alteración del sistema nigroestriado acontecida en la enfermedad, ya que el fármaco nunca produciría discinesias en personas sanas^{49,55,56}.

Anticolinérgicos: tienen una eficacia limitada. Su principal efecto lo ejercen sobre el temblor, pero tienen efectos secundarios importantes, por lo que su uso es muy limitado. Producen sequedad de boca, estreñimiento, paresia vesical con retención de orina, glaucoma, corea bucolingual, confusión mental y amnesia. Los anticolinérgicos más utilizados son el trihexifenidilo y el biperideno⁴⁹.

Inhibidores de la catecol-O-metil-transferasa (COMT): son fármacos que se utilizan para aumentar la disponibilidad de la L-DOPA. Algunos son la tolcapona, la entacapona y la opicapona^{49,57}.

Amantadina: es un fármaco con limitada eficacia en la enfermedad de Parkinson y con abundantes efectos secundarios. Produce cierto alivio de algunas discinesias por L-DOPA, gracias a su efecto antiglutamatérgico. Provoca edemas, sequedad de boca, estreñimiento, *livedo reticularis*, confusión y delirio^{49,56,58}.

Agonistas directos de los receptores dopaminérgicos: Estos fármacos, como el pramipexol, el ropirinol y la rotigotina actúan sobre los receptores D2 y D3. Cuando se administran precozmente, disminuyen los efectos secundarios del tratamiento crónico con levodopa. En monoterapia producen beneficio clínico suficiente durante 3 años en el 50% de los pacientes y en el 30% a los 5 años. El pramipexol tiene un efecto antidepresivo añadido^{59,60,49}.

Inhibidores de la monoaminooxidasa B (IMAO-B): La rasagilina y la selegilina permiten incrementar los niveles de dopamina al inhibir la enzima que la degrada. Se utilizan para los síntomas motores de la enfermedad, pero además tienen un papel como tratamiento antidepresivo⁶⁰.

Las técnicas de estimulación cerebral profunda (ECP) suponen otra estrategia terapéutica frente a la enfermedad y que han demostrado efectos beneficiosos hasta 5 y 10 años después. Es una terapia sintomática alternativa que se puede utilizar para los síntomas derivados tanto de la falta de dopamina, como para los resistentes a esta^{49,55}.

4.2 FACTORES DE RIESGO GENÉTICOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON VINCULADOS CON TRÁFICO VESICULAR

La patogénesis de la enfermedad de Parkinson sigue sin estar totalmente clara, pero múltiples estudios indican que las alteraciones presinápticas podrían subyacer en las etapas tempranas de la eliminación de dopamina y neurodegeneración⁶¹. Los estudios postmortem del cerebro apoyan la idea de que la generación de defectos en los terminales axónicos constituye un evento temprano en la enfermedad de Parkinson. La identificación de genes asociados a formas raras familiares y a un mayor riesgo de padecer la enfermedad por estudios de GWAS ha permitido postular diversos mecanismos bioquímicos y moleculares de la enfermedad. Mediante estudios genéticos y modelos experimentales animales se ha sugerido que muchos genes asociados a la enfermedad están implicados en la función sináptica y en el tráfico de vesículas en los terminales. La Tabla 2 recoge una lista detallada de los genes relacionados con el tráfico vesicular que contribuyen a la enfermedad de Parkinson y en la Figura 13 se ha representado los eventos del tráfico vesicular en la sinapsis neuronal relacionados con estos genes^{10,62}.

Algunas de las variantes de genes identificadas predisponen a la enfermedad de Parkinson esporádica, así como a la enfermedad familiar^{11,49}. Este es el caso en los genes *SNCA*, *LRRK2* y *VPS13C*. Otras mutaciones se han descrito sólo para la enfermedad familiar de Parkinson, como las de los genes *ATP13A2*, *ATP6AP2*, *VPS35*, *DNAJC13*, *DNAJC6*, *SYNJ1*, *RAB39B*, *TMEMM230*, *PINK1* y *PARK2*. Por último, otras variantes genéticas sólo se han atribuido a un mayor riesgo de padecer la forma esporádica, como las de los genes *GBA*, *SCARB2*, *SYT11*, *GAK*, *MAPT*, *LAMP3* y *RAB29*.

Se ha propuesto que la relevancia del tráfico vesicular en la EP es debido a que la arquitectura de las neuronas dopaminérgicas ofrece un desafío particular para el tráfico de vesículas debido a la exuberancia y al gran número de sus axones y terminales sinápticos. El inicio de la patología podría ser consecuencia por una parte por la proteostasis ineficaz en los terminales axónicos como resultado de las funciones limitadas de la vía endosoma-lisosoma. Por otra parte, defectos en componentes reguladores del tráfico (como *VPS35* y *LRRK2*) parecen ser necesarios para una función presináptica adecuada y modular la actividad o la localización de la α -sinucleína en algunos contextos^{11,48,63}.

Tabla 3. Genes de tráfico intracelular que contribuyen a la enfermedad de Parkinson. AD (autosómica dominante), NA (no aplicable), AR (autosómica recesiva), X (ligado al cromosoma X), Retículo endoplasmático (RE). Adaptado de¹¹.

Gen	Familiar o riesgo	Herencia	Proteína	Función propuesta	Evento de tráfico
<i>SNCA</i>	Ambas	AD	α -sinucleína	Chaperona para los complejos SNARE	Endosoma-lisosoma, sinapsis
<i>LRRK2</i>	Ambas	AD	LRRK2	Quinasa, GTPasa	Endosoma-lisosoma, sinapsis
<i>GBA</i>	Riesgo	NA	Glucocerebrosidasa	Glucocerebrosidasa lisosomal	Lisosoma, RE, Aparato de Golgi
<i>SCARB2</i>	Riesgo	NA	LIMP2	Chaperona para el tráfico de la glucocerebrosidasa	Lisosoma
<i>ATP13A2</i>	Familiar	AR	ATPasa 13A2	ATPasa transportadora de cationes lisosomal	Lisosoma
<i>ATP6AP2</i>	Familiar	X	ATP6AP2	ATPasa transportadora de protones lisosomal	Lisosoma
<i>SYT11</i>	Riesgo	NA	Synaptotagmin-11	Regulador transmembrana de la fusión lisosoma-autofagosoma y exocitosis	Lisosoma
<i>VPS13C</i>	Ambas	AR	VPS13C	Clasificación endosomal, mitofagia	Endosoma-lisosoma
<i>VPS35</i>	Familiar	AD	VPS35	Subunidad del retrómero	Endosoma-lisosoma, Aparato de Golgi
<i>DNAJC13</i>	Familiar	AD	RME-8	Co-chaperona en el desensamblaje de clatrina en el transporte endosomal	Endocitosis, sinapsis
<i>DNAJC6</i>	Familiar	AR	Auxilin-1	Co-chaperona en el desensamblaje de clatrina en el transporte endosomal	Endocitosis, sinapsis
<i>GAK</i>	Riesgo	NA	Auxilin-2	Co-chaperona en el desensamblaje de clatrina en el transporte endosomal	Endocitosis, sinapsis
<i>SYNJ1</i>	Familiar	AR	Synaptojanin-1	Fosfatasa de fosfatidilinositol	Endocitosis, sinapsis
<i>Rab39B</i>	Familiar	X	RAB39B	Rab GTPasa	Endosoma
<i>TMEM230</i>	Familiar	AD	Proteína transmembrana 230	Proteína transmembrana secretora o de reciclado de vesículas	Endosoma-lisosoma, sinapsis
<i>MAPT</i>	Riesgo	NA	Tau	Proteína asociada a microtúbulos	Transporte axonal
<i>LAMP3</i>	Riesgo	NA	Proteína de membrana asociada al lisosoma 3	Regulador de la degradación proteica durante la respuesta de proteína desplegada	Lisosoma
<i>PINK1</i>	Familiar	AR	PINK1	Quinasa, fosforila parkin y ubiquitina para regular la mitofagia	Mitocondria
<i>PARK2</i>	Familiar	AR	Parkin	E3 ubiquitin ligasa, regulador de la mitofagia	Mitocondria
<i>Rab29</i>	Riesgo	NA	RAB7-L1	GTPasa Rab	Endosoma-lisosoma, Aparato de Golgi

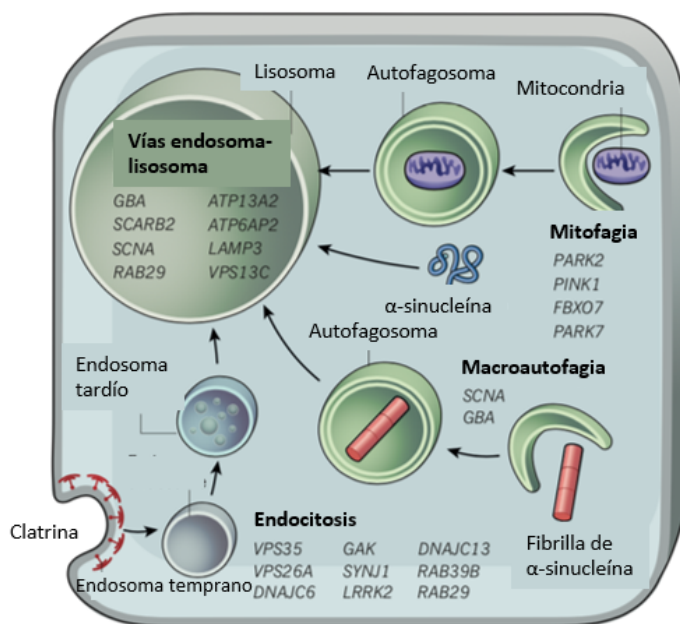


Figura 13. Genes relacionados con la enfermedad de Parkinson asociados con el tráfico endosomal y lisosomal. La mayoría de estos genes afectan a la endocitosis dependiente de clatrina, la vía endosoma-lisosoma, macroautofagia o la mitofagia. La α -sinucleína salvaje (en azul) también puede entrar en los lisosomas mediante la autofagia mediada por chaperonas. Figura modificada de ¹¹.

4.3 α -SINUCLEÍNA Y TRÁFICO DE VESÍCULAS EN LA SINAPSIS

La α -sinucleína es codificada por el gen *SNCA*, es el primer gen que fue asociado a la enfermedad de Parkinson familiar. Las mutaciones con cambio de sentido de este gen predisponen a formas hereditarias de la enfermedad de forma autosómica dominante mientras que las duplicaciones y triplicaciones en el locus *SNCA* producen enfermedad de Parkinson familiar. Estas observaciones genéticas están en concordancia con las observaciones patológicas de la enfermedad, ya que los agregados de α -sinucleína son los componentes principales de los cuerpos de Lewy. En estudios de GWAS de la EP además de las mutaciones que varían la secuencia codificante de la proteína de la α -sinucleína se han identificado SNPs y variantes genéticas presentes en más de 1% de la población que modifican la expresión génica de α -sinucleína que aumentan la probabilidad de desarrollo de la enfermedad⁶³⁻⁶⁵.

La α -sinucleína se localiza principalmente en los terminales presinápticos en el cerebro normal y su papel fisiológico es regular la exocitosis de neurotransmisores en la sinapsis, con una función reguladora de la liberación de vesículas sinápticas. La α -sinucleína actúa como una chaperona para los complejos SNARE. Estos median la fusión de la membrana para permitir la exocitosis de vesículas sinápticas. Cuando estas proteínas están alteradas tienden a plegarse de forma incorrecta. Por ello, existen cuatro chaperonas para protegerlas en la sinapsis: CSP α y los tres tipos de sinucleínas (α , β y γ). Por lo tanto, las sinucleínas regulan directa o indirectamente la capacidad de liberación de dopamina, y la eliminación de sinucleína aumenta la liberación de dopamina. Además, cuando la α -sinucleína tiene una localización y concentración fisiológica en la sinapsis se producen correctamente la macroautofagia, la degradación lisosomal y la proteasomal. Es decir, las vías de degradación son eficaces^{48,64,66}.

Sin embargo, aunque la α -sinucleína tenga este papel neuroprotector específico, también promueve la neurodegeneración. Es probable que las agresiones ambientales y el deterioro de la autofagia relacionado con la edad, así como los cambios en el gen *SNCA* y otros factores,

precipiten la acumulación de α -sinucleína, lo que provoca su oligomerización. La acumulación de la α -sinucleína es un punto clave en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson y supone la disrupción de numerosos pasos esenciales del tráfico intracelular⁴⁸.

Niveles elevados de α -sinucleína nativa producen una acumulación patológica, de forma que hay multimerización, agregación fibrilar y asociación con membranas vesiculares y organelas. Esta acumulación puede degradarse y seguir el curso normal, o formar fibrillas. La acumulación de α -sinucleína puede producirse por aumento de la producción de esta o por degradación o tráfico inefectivo. El aumento de la producción lo provocan las variantes genéticas comunes de alto riesgo en el gen de α -sinucleína, que modifican la expresión génica, o mediante raras multiplicaciones familiares de genes. La degradación o tráfico inefectivo es consecuencia de mecanismos asociados con mutaciones en α -sinucleína asociadas a enfermedad de Parkinson familiar. Las fibrillas de α -sinucleína provocan distrofia a nivel de la sinapsis, inhibición de la fusión de vesículas mediadas por SNARE, así como una atenuación de la movilidad, la dispersión intersináptica y el tamaño del conjunto de reciclaje de vesículas sinápticas. Además, el aumento de α -sinucleína va a desencadenar un tráfico intracelular alterado, ya que dificulta el tráfico endosoma-lisosoma, la macroautofagia, provoca alteraciones a nivel del retículo endoplasmático, de los endosomas tempranos y tardíos, y de los lisosomas. Estos defectos conllevan a que se produzca una degradación proteica insuficiente como consecuencia del tráfico defectuoso de importantes enzimas a los lisosomas^{11,48} (Figura 14).

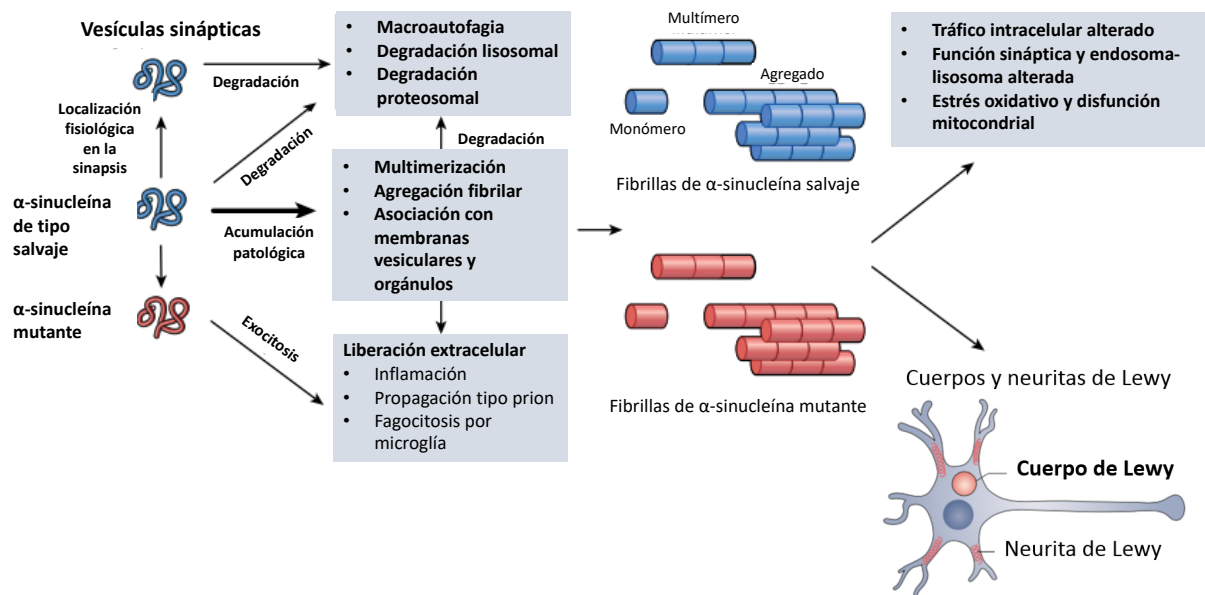


Figura 14. Las funciones fisiológicas y patológicas asociadas a la EP de las α -sinucleininas en las neuronas.

La α -sinucleína se puede liberar en el entorno extracelular de las neuronas, especialmente en el contexto de su acumulación excesiva, que puede resultar de la función lisosomal defectuosa. La α -sinucleína en exceso en forma de monómeros, multímeros o agregados puede interrumpir el tráfico intracelular y la función sináptica y contribuir a la formación de los cuerpos de Lewy. Se produce inflamación. Figura modificada de ¹¹.

Por otro lado, puede producirse α -sinucleína mutante. Las fibrillas de α -sinucleína mutante van a formar cuerpos de Lewy. Se demostró que la inyección aguda de α -sinucleína de tipo salvaje monomérica humana en los terminales sinápticos de peces lamprea junto con la estimulación intensa de las neuronas reduce significativamente las tasas endocíticas que conducen a la acumulación de vesículas recubiertas de clatrina^{11,63,67}.

La acumulación excesiva de α -sinucleína en las neuronas produce que monómeros, multímeros o agregados fibrilares insolubles de α -sinucleína se liberen al medio extracelular provocando inflamación, fagocitosis de la microglía y la diseminación de lesiones asociadas a la EP, como los cuerpos de Lewy mediante mecanismos de expansión de tipo priónico (Figura 15). Esta liberación al medio extracelular se produce a través de varios tipos de exocitosis: la exocitosis lisosomal, la diseminación transináptica o la muerte de neuronas. La α -sinucleína fibrilar extracelular puede entonces ingresar en el citoplasma de neuronas distantes al penetrar directamente en la membrana plasmática, a través de endocitosis o por la inducción de la fibrilación de otras moléculas de α -sinucleína nativas de otras neuronas. La α -sinucleína extracelular también puede inducir inflamación a través de la activación de receptores tipo Toll que se encuentran en la superficie de células inmunes innatas como la microglía. Las células inmunes innatas son capaces de eliminar la α -sinucleína extracelular a través de la fagocitosis y la degradación lisosomal^{10,11}.

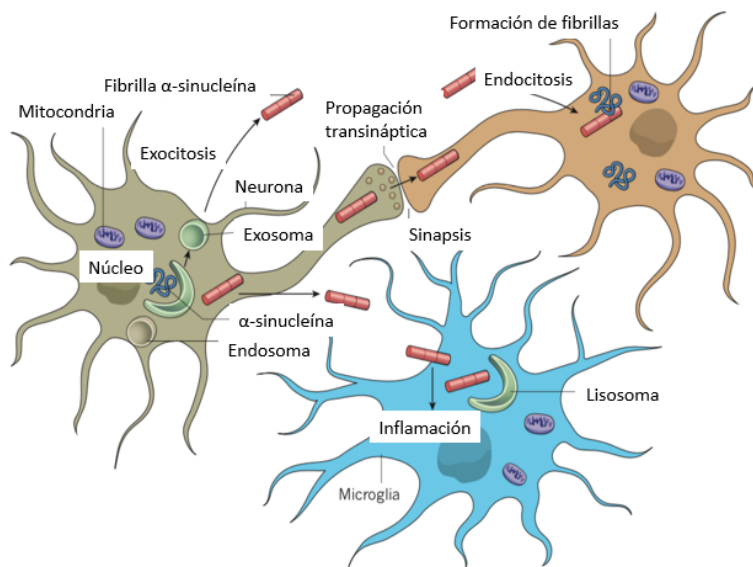


Figura 15. α -sinucleína extracelular y la hipótesis priónica. α -sinucleína puede ser liberada al medio extracelular debido a una acumulación excesiva, que puede resultar de una función lisosomal defectuosa. α -sinucleína fibrilar puede alcanzar otras neuronas por endocitosis y nuclea la fibrilación de otras moléculas de α -sinucleína nativas que están presentes en otras células. La α -sinucleína extracelular también puede inducir inflamación. Las células inmunes innatas son capaces de eliminar la α -sinucleína extracelular a través de la fagocitosis y la degradación lisosomal. Figura modificada de ¹¹.

4.4 DEFECTOS EN EL TRÁFICO LISOSOMAL Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

4.4.1 LRRK2 y tráfico lisosomal

LRRK2 (Leucine-rich repeat kinase 2) es una proteína multidominio de 2527 aminoácidos que contiene dominios quinasa, GTPasa y dominios de interacción con otras proteínas. Las mutaciones autosómicas dominantes del gen *LRRK2* son las alteraciones genéticas más prevalentes de las formas familiares de enfermedad de Parkinson. Las variaciones de este gen están asociadas con más del 40% de los casos de enfermedad esporádica. La mutación más frecuente en los países occidentales es **G2019S**^{11,48}.

El estudio de mutantes de LRRK2 en modelos celulares y animales ha mostrado que LRRK2 está implicada en el tráfico lisosomal. La expresión de mutantes de LRRK2 provoca tráfico endosoma-lisosoma defectuoso, traducción proteica desregulada y liberación basal de dopamina reducida. Como consecuencia del tráfico defectuoso se produce una acumulación de estructuras lisosomales anormales y una reducción de los procesos neuríticos en las neuronas^{48,68,69}.

Diversas evidencias experimentales apoyan el papel de LRRK2 en el tráfico vesicular en la sinapsis. Por una parte, LRRK2 interactúa con varias proteínas de la familia Rab, que regulan el tráfico intracelular, como por ejemplo con Rab29 y Rab32. Rab29, codificada por el locus *PARK16*, se asocia con riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson y Rab32 se ha relacionado con la Esclerosis Lateral Amiotrófica. Estas dos proteínas Rab pertenecen a una subfamilia implicada en el tráfico hacia lisosomas y organelas tipo lisosoma. LRRK2 también está implicada en la fosforilación y modulación de otras proteínas Rab como Rab3A, Rab8A, Rab10A y Rab12. Todavía no se ha probado pero se ha propuesto que los mutantes de LRRK2 que causan enfermedad de Parkinson podrían albergar una actividad quinasas potenciada hacia estas Rabs, llevando a interacciones alteradas con efectores posteriores de Rab y sus proteínas reguladoras, así como perturbaciones en el transporte vesicular a varios niveles¹¹.

Por otra parte, los ratones transgénicos que portan mutaciones de LRRK2 asociadas a la enfermedad de Parkinson no poseen el fenotipo de la enfermedad, como la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, estos ratones muestran las patologías lisosomales asociadas a la edad. Estos datos refuerzan la función de LRRK2 en el tráfico lisosomal^{11,63}.

Además, los pacientes que portan mutaciones en el gen *LRRK2* acumulan α -sinucleína en el cerebro. Por ello, se ha propuesto que LRRK2 interactúe con α -sinucleína y juegue un papel directo en el tráfico de α -sinucleína o que el efecto de la mutación sea indirecto, y la acumulación de α -sinucleína sea debido a una alteración más general del tráfico endosoma-lisosoma^{11,63,69}.

4.4.2 GBA y función lisosomal

El gen *GBA* codifica una hidrolasa lisosómica llamada glucocerebrosidasa. Las mutaciones autosómicas recesivas de este gen provocan la degradación defectuosa del glucoesfingolípido glucoceramida (GlcCer) en ceramida y glucosa, causando la enfermedad de Gaucher. La enfermedad de Gaucher es un trastorno del almacenamiento lisosomal con características neurológicas que incluyen parkinsonismo y otras manifestaciones clínicas. Los portadores heterocigotos de mutaciones de GBA tienen un riesgo aumentado de padecer enfermedad de Parkinson (3-8 veces más), así como un adelanto en la edad de inicio. Además, entre pacientes con enfermedad de Parkinson confirmada neuropatológicamente, la frecuencia de mutaciones en heterocigosis de GBA es elevada^{11,49}.

Una deficiencia de glucocerebrosidasa puede producir neurodegeneración, ya sea indirectamente a través de la disfunción general del lisosoma y el fallo del tráfico endosoma-lisosoma o lisosomas-autofagosoma; o más directamente a través de un vínculo entre la acumulación de GlcCer y α -sinucleína, ya que GlcCer estabiliza los oligómeros de α -sinucleína. Otra consecuencia de la disfunción de GBA es que la acumulación de GlcCer puede producir

daño celular mediante la sobreactivación de la vía de la degradación del retículo endoplasmático y de la disrupción de otros mecanismos celulares homeostáticos como la liberación de calcio asociada a estrés. También puede alterar la generación de esfingolípidos en el SNC a través de la vía de síntesis de ceramida, llevando a la alteración de la homeostasis asociada a la membrana.

Modelos neuronales de la enfermedad de Parkinson asociados con una mutación en GBA muestran una acumulación de α -sinucleína y GlcCer. Además, las neuronas que sobreexpresan α -sinucleína también tienen alterado el tráfico de glucocerebrosidasa al lisosoma, de manera que se produce retroalimentación positiva.

Un cofactor requerido para importar glucocerebrosidasa al lisosoma, LIMP-2, es codificado por el gen *SCARB2*, que también se ha relacionado con el riesgo de desarrollar la enfermedad de Parkinson en estudios de GWAS. Una deficiencia de LIMP-2 altera el transporte de GABA, así como disfunción lisosomal y la acumulación de α -sinucleína^{11,70}.

4.4.3 Mitofagia

La autofagia es un proceso degradativo de componentes celulares que se produce para mantener la homeostasis celular. Un subtipo especial de autofagia es la mitofagia, por la que se eliminan las mitocondrias. Los autofagosomas se fusionan con los lisosomas para llevar a cabo la degradación. Este proceso está regulado por proteínas SNARE/Rab, y se encuentra alterado en la enfermedad de Parkinson. El aumento de la α -sinucleína en ratones se ha relacionado con mitofagia impedida^{11,12}.

Algunos genes que producen alteración de la mitofagia, y están relacionados con la enfermedad de Parkinson familiar, son PARK2, PINK1, FBX07 y PARK7/DJ1. La mutación PARK2 (proteína parkin) es la principal etiología genética de los parkinsonismos juveniles o precoces con herencia autosómica recesiva⁴⁹.

4.4.4 Otros genes relacionados con enfermedad de Parkinson involucrados en el tráfico lisosomal

A continuación, se describen otros genes relacionados con la AP mediante GWAS y que también apoyan la relación de los defectos del tráfico lisosomal y de la integridad de los lisosomas con la acumulación de α -sinucleína y con el desarrollo de la EP.

ATP13A2. *ATP13A* codifica para una ATPasa tipo P transmembrana que está localizada en los lisosomas y en los endosomas tardíos y enriquecida en el cerebro. Las mutaciones de este gen están relacionadas con un comienzo temprano de parkinsonismo y demencia y conducen a una reducción en la función de los lisosomas y a la acumulación de lisosomas anormales. También hacen a las células más susceptibles al estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial y la toxicidad por manganeso. En modelos animales se ha demostrado que mutaciones de *ATP13A2* causan acumulación de α -sinucleína. *ATP13A2* puede interactuar con synaptotagmin-11 (codificada por el gen *SYT11*), implicada en la función lisosomal y exocitosis, y que se ha asociado por estudios de GWAS con el riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson^{11,71}.

ATP6AP2. ATP6AP2 es un transportador de protones de membrana con actividad ATPasa que se requiere para la acidificación y función del lisosoma. Las mutaciones en *ATP6AP2* se han asociado a una forma de parkinsonismo con espasticidad ligada al cromosoma X. En modelos animales, la reducción de los niveles de ATP6AP2 provoca neurodegeneración con evidencias de degradación defectuosa de proteínas a través de la vía autofagia-lisosómica¹¹.

VPS13C. *VPS13C* codifica un componente de la maquinaria lisosomal implicado en la clasificación del lisosoma. Esta proteína es capaz de extraer lípidos de las membranas celulares y transferirlos a las membranas adyacentes. Mutaciones raras, autosómicas recesivas de pérdida de función en este gen se han asociado con la enfermedad de Parkinson familiar, y las variantes comunes de este gen también se han asociado a riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson esporádica⁷¹.

4.5 DEFECTOS EN EL TRÁFICO DE LA VÍA ENDOCÍTICA

4.5.1 Disfunción del retrómero en la enfermedad de Parkinson

El retrómero es un complejo multiproteico de recubrimiento de membranas que se ensambla sobre endosomas y regula el reciclaje de proteínas. Selecciona las proteínas que van a ser recicladas y las introduce en vesículas con forma de tubo para transportarlas a la membrana celular o al aparato de Golgi. Está compuesto por tres proteínas VPS26, VPS29 y VPS35^{72,73,74,75}.

El descubrimiento de mutaciones autosómicas dominantes en el gen **VPS35 (PARK17)**, que codifica para un componente del complejo retrómero, ha implicado la disfunción del retrómero en la enfermedad de Parkinson familiar de comienzo tardío. También se ha observado en un número de pacientes con la forma esporádica autosómica dominante de la enfermedad. Las mutaciones de *VPS35* asociadas a la enfermedad de Parkinson producen defectos en el tráfico vesicular y toxicidad neuronal. Una de las proteínas transportadas por el retrómero es el receptor de las hidrolasas ácidas CIMPR (Cation-independent-mannose-6-phosphate receptor), que juega un papel esencial en el suministro de los principales componentes enzimáticos a los lisosomas. Por ello defectos en la actividad del retrómero producen una ruptura del tráfico lisosomal y de la integridad de los lisosomas^{10,14,72,73}.

La mutación de *VPS35* asociada con la EP (D620N) no afecta a su interacción con VPS26 y VPS29, sino a su interacción con otros complejos. Fue el descubrimiento de esta mutación lo que relacionó el retrómero con la patogénesis de la enfermedad de Parkinson⁷⁶. *VPS35* actúa como plataforma para interactuar con otras proteínas. Al sufrir mutaciones, es probable que estas interacciones estén alteradas. Por ejemplo, el retrómero interactúa con el complejo WASH y esta asociación se requiere para la selección de la carga en los endosomas tempranos, así como para su transporte al destino correcto. Las mutaciones asociadas a la enfermedad de Parkinson en *VPS35* empeoran su interacción con el complejo WASH lo que conduce a estrés proteotóxico. El complejo WASH participa en esta función del retrómero, así como en las rutas de degradación^{11,14}.

Por otro lado, se ha visto que la pérdida de función de VPS35 puede sensibilizar a las células a la acumulación de α -sinucleína, al interferir con la maquinaria de degradación. Esto se ha probado en diferentes modelos experimentales como levaduras y ratones transgénicos¹¹.

Además, la autofagia está alterada en células que expresan VPS35 mutante, propio de la enfermedad de Parkinson. Se produce un transporte alterado de ATG9A, una proteína transmembrana requerida en la formación del autofagosoma¹⁰.

4.5.2 Otros genes relacionados con enfermedad de Parkinson involucrados en el tráfico endosomal

Al menos otros cinco genes de la vía endocítica se han relacionado con la enfermedad de Parkinson.

DNAJC13, Auxilina 1 y Auxilina 2: Estas tres proteínas están implicadas en la endocitosis mediada por clatrina y contribuyen al desensamblaje del recubrimiento de clatrina en la membrana plasmática de la sinapsis. DNAJC13 (también conocida como RME-8) interacciona al igual que el retrómero con el complejo WASH. Auxilina 1, codificada por el gen *DNAJC6*. Auxilina 2 codificada por *GAK*. Los genes DNAJC13 y DNAJC6 se han asociado a enfermedad de Parkinson familiar, a través de mutaciones de pérdida de función. Sin embargo las variantes comunes de *GAK* se han vinculado con el riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson esporádico^{11,77}.

SYN1: El gen *SYN1* codifica para la sinaptojanina-1. Esta proteína es necesaria para el desprendimiento de adaptadores de la clatrina en la vía endosomal. Mutaciones en *SYN1* producen un síndrome familiar que da clínica de enfermedad de Parkinson y convulsiones que se asocia con defectos en el tráfico endosomal y lisosomal tardío^{11,78}.

RAB39B: El gen *RAB39B* codifica para una ATPasa de la familia Rab que se localiza en los endosomas tempranos. Las mutaciones de pérdida de función de este gen aparece en formas familiares de parkinsonismo con deterioro cognitivo y acumulación de α -sinucleína en las neuronas¹¹.

Estos hallazgos apuntan a que defectos en el tráfico endosomal y en la clasificación del cargo en los endosomas provoca una disfunción lisosomal y defectos en la proteostasis. Estos mecanismos pueden aparecer en la enfermedad de Parkinson o en parkinsonismos.

5. NUEVAS PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DIRIGIDAS AL TRÁFICO INTRACELULAR

5.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

5.1.1 Fracasos y éxitos de las terapias dirigidas contra las placas de β -amiloide, Tau e inflamación

En las poblaciones de todo el mundo está aumentando la incidencia y la prevalencia de las enfermedades relacionadas con la edad, como la enfermedad de Alzheimer. Además, la discapacidad asociada con la demencia, particularmente en las etapas posteriores, causa una gran carga personal, social y económica, lo que conduce a una importante preocupación de salud pública. Se estima que, en 2018, había 50 millones afectados por demencia, y esta cifra se convertirá en 130 millones para 2050⁷⁹.

Desde 2003 no se ha aprobado ningún medicamento por la FDA (Food and Drug Administration, Administración de Medicamentos y Alimentos) para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, pero más de 600 ensayos clínicos están actualmente en marcha a relacionados con la EA. Entre ellos más de cien exploran el efecto de nuevos fármacos y otros son estrategias no farmacológicas como intervenciones en la conducta, ejercicios y tratamientos físicos que incluyen acupuntura, dispositivos electromagnéticos e incluso cirugía (www.clinicaltrials.gov). La mayoría de estos estudios farmacológicos están dirigidos a inhibir la formación de los péptidos A β en el cerebro ya que la aproximación más aceptada para explicar la patogenia de la EA es la hipótesis amiloidogénica que propone que el péptido A β juega un papel clave en esta enfermedad. Pero otros están dirigidos a reducir tau, a aumentar la respuesta inmunitaria, inflamación, mejorar la cognición con serotonina o suplementos dietéticos⁸⁰.

Se han desarrollado varios fármacos dirigidos a inhibir la formación de los péptidos A β . Entre ellos se encuentran los inhibidores de BACE1 y γ -secretasa e inmunoterapias enfocadas a inhibir la agregación del A β . El tratamiento con **inhibidores de BACE1** (β -secretase Inhibitor IV y Compound E, EMD Millipore) reducía significativamente la patología amiloide y tau en estudios con células madre pluripotentes derivadas de pacientes con enfermedad de Alzheimer. También disminuía la hiperfosforilación de tau en el último momento del tratamiento, después de haberse observado la reducción de β -amiloide^{32,81}. Sin embargo, los inhibidores de BACE1 fallaron en el ensayo clínico. Se desconoce si el fracaso es debido a que se dieron demasiado tarde o si solo redujeron el amiloide intracelular³⁸.

También se han llevado a cabo ensayos clínicos con **anticuerpos monoclonales contra el β -amiloide** cerebral. Uno de ellos es Solanezumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que promueve el aclaramiento de A β en el cerebro pero que falló en la fase 3 del ensayo clínico ya que no muestra eficacia en pacientes con EA^{34,82}. Otros dos anticuerpos anti-A β se encuentran actualmente en fase tempranas de estudio: BAN2401 y aducanumab5. Se ha visto que ambos reducen los niveles de A β en el cerebro, pero todavía hay que esperar a ensayos más definitivos para comprobar si influyen en la cognición de manera significativa⁸³.

Por otro lado, se han estudiado diversas estrategias terapéuticas dirigidas **contra tau y la formación de ovillos neurofibrilares**. Inicialmente, estas terapias se basaban principalmente en la inhibición de las quinasas que fosforilan tau, en la agregación de tau, o en la estabilización de los microtúbulos, pero la mayoría de estos enfoques se han suspendido debido a su toxicidad o falta de eficacia. Actualmente, la mayoría de las terapias dirigidas contra tau en ensayos clínicos son inmunoterapias, que se han mostrado prometedoras en numerosos estudios preclínicos²⁰.

También se están ensayando **fármacos anti-inflamatorios** ya que se ha visto que la inflamación contribuye a la patología de la EA, debido a que promueve la destrucción neuronal por A β . Se está estudiando el tratamiento combinado ALZT-OPT1 que incluye ibuprofeno oral con la medicación antiinflamatoria inhalada, cromolina. La benfotiamina, un derivado de la tiamina con propiedades antiinflamatorias se está estudiando en otro ensayo⁸⁴.

El fracaso de todas las estrategias terapéuticas desarrolladas para evitar el depósito de β -amiloide hasta la fecha ha puesto la hipótesis de la cascada de amiloide en entredicho. Antiguamente se creía que las placas de amiloide eran la única causa de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer, el primer hito de la neurotoxicidad. Sin embargo, muchas veces no hay correlación entre la neurotoxicidad y las placas, por ejemplo, en el lóbulo temporo-medial. Se observaron zonas con menores niveles de amiloide extracelular en las que las neuronas acumulan amiloide intracelular (neurotoxina primaria)³⁸. En las mutaciones familiares de la enfermedad se observa una secreción alterada de β -amiloide, sin embargo, esta secreción y la expresión de APP no se ven consistentemente alteradas en la enfermedad de Alzheimer esporádica⁸⁵. Pero el fracaso de los ensayos clínicos puede ser debido a otras razones como que los pacientes que participan en los ensayos clínicos están ya en una fase muy avanzada de la enfermedad. Además, muchos tests preclínicos que eran muy prometedores después fracasaban al trasladarlos a pacientes. Por ello se ha señalado la utilización de modelos animales como causa de la falta de éxito.

5.1.2 Disminución de β -amiloide mediante el control del tráfico vesicular

Estudios recientes sugieren que la acumulación de A β en el cerebro comienza al menos 20 años antes de que aparezcan los síntomas. Para el momento en que se detectan placas de amiloide, ovillos neurofibrilares y muerte neuronal, es poco probable que la progresión de la enfermedad se pueda detener y revertir. La identificación y el tratamiento de las patologías preclínicas pueden ser críticas para una cura efectiva. En este contexto, las aberraciones endosómicas constituyen la citopatología cerebral detectable más temprana, surgiendo antes de que la disfunción cognitiva sea evidente en los trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer. Consistente con este hallazgo, los genes asociados con el tráfico de endosomas han sido implicados como los principales factores de riesgo en EA. Es importante destacar que en el genotipo 9, 10, 11 de ApoE4, se ha observado una endosomopatía pre-sintomática del cerebro prominente, evidenciada por endosomas agrandados y más numerosos. Estos “atascos” pueden ocurrir de manera independiente al depósito del amiloide. Además, las terapias dirigidas al amiloide extracelular como la inmunoterapia puede que hayan fracasado porque no afectan al intracelular e incluso puede que podrían aumentarlos. Por ello reducir la producción de APP intracelular podría ser una estrategia más eficaz. Por lo tanto, numerosos estudios recientes buscan nuevas vías terapéuticas dirigidas al tráfico intracelular³⁸.

Las siguientes estrategias terapéuticas destinada a **incrementar el flujo hacia los endosomas tempranos** están mostrando resultados prometedores.

Rab10. Su función es crítica para la función neuronal adecuada. Se encarga del mantenimiento y regulación del retículo endoplásmico, y se ha relacionado con el desarrollo axonal y la arborización dendrítica. Aunque se ha implicado en varias funciones dentro del transporte intracelular, es importante su función en la vía de reciclaje endocítica y en los endosomas tempranos, así como en la degradación lisosomal⁸⁶. Rab10 participa también junto al retrómero en el transporte retrogrado de proteínas de los endosomas al TGN⁸⁷. Se identificó una variante rara en Rab10 que confiere resistencia a la enfermedad, por lo que las evidencias apoyaban el rol de Rab10 en la patogénesis del Alzheimer. Observaron que el **silenciamiento de la expresión de Rab10**, que se expresa en todos los tipos celulares del cerebro, conducía a un descenso significativo de A β 42 y de la ratio A β 42/40. Además, los niveles de Rab10 en pacientes con diagnóstico neuropatológico de enfermedad de Alzheimer eran claramente mayores que en los controles⁸⁸. Por ello, se está intentando utilizar como diana Rab10, mediante moléculas pequeñas o anticuerpos, por ejemplo. Las aproximaciones están siendo exitosas, de forma que se está formando cierto optimismo hacia la utilización de pequeñas moléculas contra Rab10 y su impacto en la enfermedad⁸⁷.

RETRÓMERO. Se han identificado chaperonas farmacológicas que se unen y estabilizan el complejo retrómero y de esta manera **incrementan los niveles de retrómero** en las neuronas y su actividad de transporte⁸⁹. Estas chaperonas aumentan el flujo de APP y SORL1 fuera del endosoma temprano¹⁴ y reducen la acumulación neuronal de β -CTF y A β ³⁸. Aunque pueda parecer que podrían darse muchos efectos tóxicos secundarios, se ha observado que incrementar la función del retrómero no tenía consecuencias en levaduras, cultivos de neuronas o ratones. Además, el aumento de niveles de retrómero revierte los efectos neurotóxicos de varias mutaciones. La evidencia actual sugiere que la **potenciación del retrómero** podría disminuir el procesamiento patogénico de APP en las neuronas y mejorar la función de la microglía, incluso aunque no hubiese deficiencias previas en el retrómero¹⁴.

AUTOFAGIA. Otra estrategia terapéutica es dirigir la autofagia para reducir los depósitos de amiloide. Hay estudios prometedores en este campo. Por una parte, se ha visto que la administración periférica de rapamicina para estimular fuertemente la autofagia reduce sustancialmente los depósitos de amiloide y la patología en los modelos de ratón transgénicos de la patología de Alzheimer. En otro estudio con modelos de ratones de la EA se estimuló la eficacia proteolítica lisosomal mediante la eliminación de un inhibidor endógeno de la cisteína proteasa lisosomal (cistatina B) que rescata patologías lisosomales y elimina la acumulación autolisosómica anormal de sustratos autofágicos. Se observó una disminución de los depósitos de amiloide y una mejora de los déficits de aprendizaje y de memoria. Se observan efectos terapéuticos similares, incluida la restauración de las funciones sinápticas, en modelos de ratón APP después de eliminar la cistatina C por sobreexpresión de la catepsina B, o aumentar su actividad, o al estimular la biogénesis lisosomal mediante TFEB⁹⁰.

En conjunto, estas observaciones apoyan la importancia patógena de la disfunción endosomal-lisosomal-autofagia en la EA y el rango de posibles formas en que los endosomas y la función de los lisosomas pueden ser dianas para terapias innovadoras para la EA.

5.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON

5.2.1 Fracasos y éxitos de las terapias para la enfermedad de Parkinson.

La enfermedad de Parkinson afecta a millones de personas a nivel mundial. A pesar de la elevada prevalencia de la EP todavía no existe ningún fármaco que detenga o retrase la progresión de la enfermedad. Las múltiples vías afectadas en la enfermedad complican el tratamiento etiológico de esta. En la actualidad hay registrados 700 ensayos clínicos a nivel mundial relacionados con la enfermedad de Parkinson (www.clinicaltrials.gov). Hasta la fecha, grandes estudios clínicos han resultado negativos para una serie de posibles terapias que modifican la enfermedad, como rasagilina, pramipexol, coenzima Q, creatina y pioglitazona⁹¹.

En los últimos años se ha dedicado mucho esfuerzo a explorar la capacidad terapéutica de **inmunoterapias** para la EP, tanto la inmunización pasiva (anticuerpos) como la activa (vacunas). Se ha evaluado el efecto de **anticuerpos anti α -sinucleína** para el aclaramiento de la α -sinucleína ya que se piensa que su acumulación es un factor esencial en la pérdida de neuronas asociada a la enfermedad. Además, la α -sinucleína extracelular tiene un papel potencial en la propagación o inflamación de tipo priónico. Varios ensayos clínicos han evaluado hasta ahora la seguridad y la tolerabilidad de dosis ascendentes de una infusión intravenosa de anticuerpos anti- α Syn en humanos. Los estudios más avanzados ya han alcanzado el nivel de estudio clínico de fase II. El uso de estrategias de inmunización activa con **vacunas anti α -sinucleína** sólo se han estudiado en ensayos clínicos en fase I en humanos. Estos estudios tienen resultados alentadores, ya que se detectaron anticuerpos anti α -sinucleína en el líquido cefalorraquídeo que se unían tanto α -sinucleína oligomérica como fibrilar. Ahora, la eficacia clínica debe demostrarse en estudios de fase II⁹².

Otra de las vías abordadas es **reducir la síntesis de α -sinucleína**. El silenciamiento de SNCA ha proporcionado resultados mixtos en los estudios preclínicos, pero todavía no se ha explorado en ensayos clínicos. La mayor preocupación respecto a esta terapia es qué consecuencias tiene el silenciamiento en el rol fisiológico de la proteína^{55,93,94}. Se ha descubierto que los agonistas β 2 adrenérgicos tienen potencial para modificar la enfermedad reduciendo la expresión de SNCA y promoviendo la integridad de las neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, no se ha visto que estén asociados con diferente riesgo de enfermedad de Parkinson^{95,96}.

Otra terapia potencialmente modificadora de la enfermedad que se va a probar es la **exenatida**, un péptido similar al glucagón que activa la secreción de insulina dependiente de la glucosa y retarda el vaciamiento gástrico, y está aprobado para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Los estudios clínicos con este medicamento han demostrado que los pacientes tratados con exenatida tuvieron mejoras en los tests relacionados con las características tanto motoras (temblor) como no motoras (depresión) de la EP. Se necesita un futuro estudio de fase III, con un mayor número de pacientes, para probar o refutar el efecto modificador de exenatida en la enfermedad⁹¹.

El uso de **células madre adultas pluripotenciales** para restituir la pérdida de neuronas dopaminérgicas es otra potencial estrategia terapéutica. Los ensayos preclínicos con modelos animales de la enfermedad de Parkinson mostraron mejora de los síntomas y un aumento de la innervación de las neuronas dopaminérgicas. Hay un ensayo clínico en fase I para evaluar la

seguridad y la eficacia del trasplante de células madre neuronales derivadas de células madre embrionarias (hESC) en pacientes con EP⁵⁵.

5.2.2 Aproximaciones terapéuticas dirigidas al tráfico vesicular

En la actualidad no hay ningún tratamiento que cure la enfermedad de Parkinson. Por ello la búsqueda de nuevas aproximaciones terapéuticas es esencial. Como se ha indicado en el apartado 4 mutaciones en varios genes relacionados con el tráfico intracelular han sido relacionados con una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad. Los siguientes estudios muestran diferentes componentes de la ruta endosomal-lisosomal que podrían actuar como diana terapéutica.

LISOSOMAS. En ciertos casos la enfermedad de Parkinson podría representar una aparición leve y tardía de un trastorno de almacenamiento lisosomal. Estos suelen ser graves, como se ha observado en síndromes hereditarios de la infancia provocados por una función lisosómica defectuosa. Pacientes que sufren estos síndromes tienen un riesgo aumentado de padecer la enfermedad de Parkinson. Dada la relación entre los trastornos de almacenamiento lisosomal y la EP, las estrategias aplicables a estos podrían ser aplicables a la enfermedad de Parkinson. Los fármacos que mejoran la función o el tráfico de los lisosomas, incluidas las β -ciclodextrinas, o la transducción de genes como el TFEB, que codifica el factor de transcripción EB, podrían proporcionar beneficios terapéuticos en el contexto de la enfermedad de Parkinson¹¹. También la sobreexpresión de factores de transcripción como TFEB, asociado con el lisosoma, podría tener efectos neuroprotectores⁹⁷.

α -SINUCLÉINA. Otra posible diana terapéutica son los defectos del tráfico endosomal que se producen debido a un exceso de α -sinucleína. Se ha propuesto para ello emplear moléculas que afectan selectivamente la acumulación de α -sinucleína o inhibidores de su fibrilación. Se ha propuesto el uso de NAB2, una pequeña molécula terapéutica ensayada en levaduras puede revertir la toxicidad causada por α -sinucleína, aumentar el aclaramiento α -sinucleína mediante la potenciación de la actividad proteasomal con pequeñas moléculas como IU1, que inhibe USP14, una deubiquitinasa asociada al proteasoma o incrementar la degradación de α -sinucleína por autofagia⁵⁵. Otra vía de actuación es impedir la entrada de α -sinucleína en las células mediante el bloqueo de la endocitosis utilizando un inhibidor farmacológico de la dinamina (por ejemplo, Sertraline) o un anticuerpo anti-LAG3¹⁰.

INHIBIDORES DE LRRK2. La interacción funcional entre LRRK2 y α -sinucleína abrió la posibilidad de que terapias dirigidas a inhibir la función de LRRK2 pudieran ser efectivas^{11,98}. Varias mutaciones patogénicas comunes de LRRK2, incluida la G2019S, producen un aumento de la actividad quinasa de LRRK2, por lo que se han investigado varias estrategias para disminuir dicha actividad. Sin embargo, la implicación de esta actividad alterada en el desarrollo de la EP se desconoce, y el uso de inhibidores de la actividad quinasa de LRRK2 se han relacionado paradójicamente con trastornos lisosomales¹¹. Otro de los problemas que han salido a la luz es que LRRK2 estaba muy expresado en los riñones, y los ratones knockout de LRRK2 tenían alteraciones estructurales renales. Sin embargo, esto no parecía ocurrir en el contexto de la inhibición farmacológica⁵⁵. El desarrollo preclínico de pequeñas moléculas inhibitoras parece prometedor en modelos animales. DNL201 conseguía un 90% de inhibición en estudios fase I con voluntarios sanos. DNL151, otro inhibidor de LRRK2 sigue en proceso en un ensayo en fase I^{11,55,98}.

AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DE GBA. Incrementar la actividad de GBA podría mejorar la degradación de α -sinucleína en las neuronas. Se han considerado como posibles estrategias terapéuticas para la EP suministrar GBA o mejorar selectivamente su función mediante activadores funcionales de la enzima o chaperonas moleculares como ambroxol que estabilizan su estructura. No se ha descrito su eficacia clínica todavía, pero hay un ensayo clínico con ambroxol en la enfermedad de Parkinson en desarrollo. Otras chaperonas como LTI-291 y AT3375 se están desarrollando tanto para la enfermedad de Gaucher como para la enfermedad de Parkinson. Dado que no todos los pacientes con mutaciones en GBA desarrollan parkinsonismo, habría que realizar una selección exhaustiva a la hora de los futuros ensayos clínicos^{11,99–101}.

AUTOFAGIA. Otra vía terapéutica consiste en mejorar el flujo autofágico. En este sentido se ha evaluado la inhibición de la serina-treonina proteína quinasa mTOR con rapamicina. Sin embargo, esta estrategia puede ser contraproducente si el defecto principal está en la vía de la fusión de autofagosomas con lisosomas^{11,55,102}.

ESTABILIZACIÓN DEL RETRÓMERO. El aumento de la actividad del retrómero podría ser una vía terapéutica prometedora¹¹. Al igual que para la enfermedad de Alzheimer, se podría utilizar la estabilización e incremento de los niveles del retrómero en la enfermedad de Parkinson asociada a LRRK2. Se ha comprobado que el incremento de la función del retrómero puede suprimir la toxicidad de mutaciones de LRRK2 o la sobreexpresión de α -sinucleína. Esto supone una posible vía terapéutica. Además, la sobreexpresión de VPS35 en modelos animales rescata los efectos neurotóxicos de estas vías patológicas^{11,14}. Sin embargo, la sobreexpresión también se ha visto que puede ser tóxica en las neuronas corticales primarias en los modelos con ratones, por lo que el nivel de expresión del retrómero tiene que estar muy controlado y regulado^{76,103}.

6. CONCLUSIONES

Las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson son enfermedades complejas y multifactoriales. Por ello las terapias para combatir estas patologías deben incluir múltiples vías de acción en lugar de una única. En ambas enfermedades, variantes de los genes relacionados con el tráfico intracelular se encuentran entre los principales riesgos genéticos de desarrollar estas patologías. Estudios de investigación realizados en modelos experimentales han demostrado la relación de defectos en el tráfico intracelular con las características neuropatológicas de estas enfermedades. En los últimos años se han obtenido resultados prometedores que apuntan a que la modulación del tráfico intracelular hacia los lisosomas, autofagia o el reciclaje endosomal reducen la formación de placas de β -amiloide y fibrillas de α -sinucleína. Por ello, el tráfico intracelular se ha convertido en una nueva diana terapéutica que todavía no ha sido explorada y que podría combinarse con otras aproximaciones terapéuticas para lograr inhibir o atenuar la progresión patológica de enfermedades neurodegenerativas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Schott, C. A. L. J. H. J. Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* **25**, 59–70 (2018).
2. Hodson, R. Alzheimer's disease. *Nat.* 2018 5597715 (2018).
3. Martin Prince, A. *et al.* *World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia An Analysis of prevalence, Incidence, cost and Trends.*
4. Drew, L. An age-old story of dementia. *Nat.* 2018 5597715 (2018).
5. Villarejo Galende, A. *et al.* Informe de la Fundación del Cerebro. Impacto social de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Neurología* (2017). doi:10.1016/j.nrl.2017.10.005
6. Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers. Dement.* **12**, 459–509 (2016).
7. García-Ramos, R., López Valdés, E., Ballesteros, L., Jesús, S. & Mir, P. Informe de la Fundación del Cerebro sobre el impacto social de la enfermedad de Parkinson en España. *Neurología* **31**, 401–413 (2016).
8. Neefjes, J. & van der Kant, R. Stuck in traffic: An emerging theme in diseases of the nervous system. *Trends Neurosci.* **37**, 66–76 (2014).
9. Molist, P. & Pombal, M. A. TRÁFICO VESICULAR. (2017).
10. Hasegawa, T., Sugeno, N., Kikuchi, A. & Baba, T. Membrane Trafficking Illuminates a Path to Parkinson's Disease. 63–76 (2017). doi:10.1620/tjem.242.63.Correspondence
11. Abeliovich, A. & Gitler, A. D. Defects in trafficking bridge Parkinson's disease pathology and genetics. *Nature* **539**, 207–216 (2016).
12. Pan, P., Zhu, Y., Shen, Y. & Yue, Z. Neurobiology of Disease Crosstalk between presynaptic trafficking and autophagy in Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* **122**, 64–71 (2019).
13. Alberts, B. *Biología Molecular de la Célula 6ª Edición.* (2016).
14. Small, S. A. & Petsko, G. A. Retromer in Alzheimer disease, Parkinson disease and other neurological disorders. *Nat. Reviews Neuroscience* (2015). doi:10.1038/nrn3896
15. Hausman, C. y. *La célula 7ª edición.* (2017).
16. Paniagua, R; Nistal, M; Sesma, P; Álvarez-Uría, M; Fraile, B; Anadón, R; Sáez, F. *Biología celular.* (2007).
17. Kiral, F. R., Kohrs, F. E., Jin, E. J. & Hiesinger, P. R. Rab GTPases and Membrane Trafficking in Neurodegeneration. *Curr. Biol.* **28**, R471–R486 (2018).
18. Adam, M. P., Ardinger, H. H. & Pagon, R. A. *Alzheimer Disease Overview.* (1998).
19. Fernández, M.; Gramunt, N.; Blanco, E.; Molinuevo, J.L.; Zarranz, J. . Demencias. in *Neurología J.J. Zarranz* 665–678 (2018).
20. Congdon, EE; Sigurdsson, E. Tau-targeting therapies for Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurol* **14(7)**, 399–415 (2018).
21. Garre Olmo, J. Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Rev. Neurol.* **66**, 377 (2018).
22. Shao, W., Peng, D. & Wang, X. Genetics of Alzheimer's disease: From pathogenesis to clinical usage. *J. Clin. Neurosci.* **45**, 1–8 (2017).
23. Toh, W. H. & Gleeson, P. A. Dysregulation of intracellular trafficking and endosomal sorting in Alzheimer's disease : controversies and unanswered questions. 1977–1993 (2016). doi:10.1042/BCJ20160147
24. Giri, M., Lü, Y. & Zhang, M. Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status. *Clin. Interv. Aging* **11**, 665 (2016).
25. Cataldo, A. M. *et al.* Endocytic Pathway Abnormalities Precede Amyloid β Deposition in

- Sporadic Alzheimer's Disease and Down Syndrome Differential Effects of APOE Genotype and Presenilin. *Am. J. Pathol.* **157**, 277–286 (2000).
26. Karch, CM; Goate, A. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry* **77**, 43–51 (2015).
 27. Gatz, M. *et al.* Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch. Gen. Psychiatry* **63**, 168–74 (2006).
 28. Mastroeni, D., McKee, A., Grover, A., Rogers, J. & Coleman, P. D. Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease. *PLoS One* **4**, e6617 (2009).
 29. Chêne, G. *et al.* Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. *Alzheimer's Dement.* **11**, 310–320 (2015).
 30. Xu, W; Tan, L; Wang, H. F. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **86**, 1299–1306 (2015).
 31. Tan, J. Z. A. & Gleeson, P. A. The role of membrane trafficking in the processing of amyloid precursor protein and production of amyloid peptides in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. acta. Biomembr.* **1861**, 697–712 (2019).
 32. Raja, W. K. *et al.* Self-Organizing 3D Human Neural Tissue Derived from Induced Pluripotent Stem Cells Recapitulate Alzheimer's Disease Phenotypes. 1–18 (2016). doi:10.1371/journal.pone.0161969
 33. Tan, J. Z. A. & Gleeson, P. A. BBA - Biomembranes The role of membrane trafficking in the processing of amyloid precursor protein and production of amyloid peptides in Alzheimer's disease. *BBA - Biomembr.* **1861**, 697–712 (2019).
 34. Folch, J. *et al.* Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: Strategies for combating β -amyloid protein. *Neurologia* **33**, 47–58 (2018).
 35. Jack, C. R. *et al.* Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol.* **12**, 207–216 (2013).
 36. Schmidt, R; Hofer, E; Bouwman, F. EFNS-ENS/EAN Guideline on concomitant use of cholinesterase inhibitors and memantine in moderate to severe Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* **22**, 889–898 (2015).
 37. Müller, U. C., Deller, T. & Korte, M. Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family. *Nat. Rev. Neurosci.* **18**, 281–298 (2017).
 38. Small, S. A., Simoes-Spassov, S., Mayeux, R. & Petsko, G. A. Endosomal Traffic Jams Represent a Pathogenic Hub and Therapeutic Target in Alzheimer's Disease. *Trends Neurosci.* **40**, 592–602 (2017).
 39. Small, S. A. Isolating pathogenic mechanisms embedded within the hippocampal circuit through regional vulnerability. *Neuron* **84**, 32–39 (2014).
 40. Follett, J., Bugarcic, A., Collins, B. M. & Teasdale, R. D. Retromer's Role in Endosomal Trafficking and Impaired Function in Neurodegenerative Diseases. *Curr. Protein Pept. Sci.* **18**, 687–701 (2017).
 41. Lambert, J. C. Meta-analysis of 74046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **45**, 1452–1458 (2013).
 42. Vardarajan, B. N. Identification of Alzheimer disease-associated variants in genes that regulate retromer function. *Neurobiol. Aging.* **33**, 2231 (2012).
 43. Reitz, C. Independent and epistatic effects of variants in VPS10 receptors on Alzheimer disease risk and processing of the amyloid precursor protein (APP). *Transl Psychiatry* **3**, (2013).
 44. Xu, S., Nigam, S. M. & Brodin, L. Overexpression of SNX3 Decreases Amyloid- β Peptide

- Production by Reducing Internalization of Amyloid Precursor Protein. *Neurodegener. Dis.* **18**, 26–37 (2018).
45. Rogaeva, E. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat. Genet.* **39**, 168–177 (2007).
 46. Dodson, S. E. LR11/SorLA expression is reduced in sporadic Alzheimer disease but not in familial Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **65**, 866–872 (2006).
 47. Kleinberger, G. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Sci. Transl. Med.* **6**, (2014).
 48. Hunn, B. H. M., Cragg, S. J., Bolam, J. P., Spillantini, M. G. & Wade-Martins, R. Impaired intracellular trafficking defines early Parkinson’s disease. *Trends Neurosci.* **38**, 178–188 (2015).
 49. Gómez-Esteban, J.C.; Minguez-Castellanos, A.; Berganzo, K; Tijero, B; Luquin, R.; Zarranz, J. J. Enfermedades caracterizadas por trastornos del movimiento. in *Neurología J.J. Zarranz* 413–425 (2018).
 50. Schapira, A. H. V, Chaudhuri, K. R. & Jenner, P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **18**, 509 (2017).
 51. Kalia, L. V & Lang, A. E. Parkinson’s disease. *Lancet (London, England)* **386**, 896–912 (2015).
 52. Mendoza-Velásquez, J. J. *et al.* Autonomic Dysfunction in α -Synucleinopathies. *Front. Neurol.* **10**, 363 (2019).
 53. Arredondo-Blanco, K., Zerón-Martínez, R., Rodríguez-Violante, M. & Cervantes-Arriaga, A. Breve recorrido histórico de la enfermedad de Parkinson a 200 años de su descripción. *Gac. México* **154**, (2018).
 54. Hughes, A. J. *et al.* Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson’s disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **55**, 181–184 (1992).
 55. Elkouzi, A., Vedam-Mai, V., Eisinger, R. S. & Okun, M. S. Emerging therapies in Parkinson disease — repurposed drugs and new approaches. *Nat. Rev. Neurol.* **15**, 204–223 (2019).
 56. Elkurd, M. T., Bahroo, L. B. & Pahwa, R. The role of extended-release amantadine for the treatment of dyskinesia in Parkinson’s disease patients. *Neurodegener. Dis. Manag.* **8**, 73–80 (2018).
 57. Trenkwalder, C., Kuoppamäki, M., Vahteristo, M., Müller, T. & Ellmén, J. Increased dose of carbidopa with levodopa and entacapone improves “off” time in a randomized trial. *Neurology* **92**, e1487–e1496 (2019).
 58. Vanle, B. *et al.* NMDA antagonists for treating the non-motor symptoms in Parkinson’s disease. *Transl. Psychiatry* **8**, 117 (2018).
 59. Barone, P. *et al.* Pramipexole for the treatment of depressive symptoms in patients with Parkinson’s disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet. Neurol.* **9**, 573–80 (2010).
 60. Peña, E. *et al.* Antidepresivos en la enfermedad de Parkinson. Recomendaciones del grupo de trastornos del movimiento de la Asociación Madrileña de Neurología. *Neurología* **33**, 395–402 (2018).
 61. Schirinzi, T. Early synaptic dysfunction in Parkinson’s disease: insights from animal models. *Mov. Disord.* **31**, 802–813 (2016).
 62. Chang, D. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies 17 new Parkinson’s disease risk loci. *Nat. Genet.* **49**, 1511–1516 (2017).
 63. Nguyen, M., Wong, Y. C., Ysselstein, D., Severino, A. & Krainc, D. Synaptic, Mitochondrial, and Lysosomal Dysfunction in Parkinson’s Disease. *Trends Neurosci.* **42**, 140–149 (2019).

64. Lautenschlager, J. α -Synuclein-regulator of exocytosis, endocytosis, or both? *Trends Cell Biol.* **27**, 468–479 (2017).
65. Lautenschlager, J. C-terminal calcium binding of α -synuclein modulated synaptic vesicle interaction. *Nat. Commun.* **9**, 712 (2018).
66. Vargas, K. J. Synucleins have multiple effects on presynaptic architecture. *Cell Rep.* **18**, 161–173 (2017).
67. Eguchi, K. Wild-type monomeric α -synuclein can impair vesicle endocytosis and synaptic fidelity via tubulin polymerization at the calyx of Held. *J. Neurosci.* **37**, 6043–6052 (2017).
68. Arranz, A. LRRK2 functions in synaptic vesicle endocytosis through a kinase-dependent mechanism. *J. Cell. Sci.* **128**, 541–552 (2015).
69. Xiong, Y. Robust kinase- and age-dependent dopaminergic and norepinephrine neurodegeneration in LRRK2 G2019S transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**, 1635–1640 (2018).
70. Kinghorn, K., Asghari, A. & Castillo-Quan, J. The emerging role of autophagic-lysosomal dysfunction in Gaucher disease and Parkinson's disease. *Neural Regen. Res.* **12**, 380 (2017).
71. Lunati, A., Lesage, S. & Brice, A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev. Neurol. (Paris)*. **174**, 628–643 (2018).
72. Zimprich, A; Benet-Pages, A; Struhal, W; Graf, E; Eck, SH; Offman, MN; Haubenberger, D; Spielberg, S; Schulte, EC; Lichtner, P. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *Am. J. Hum. Genet.* **89**, 168–175 (2011).
73. Vilarino-Guell, C; Wider, C; Ross, OA; Dachsel, JC; Kachergus, JM; Lincoln, SJ; Soto-Ortolaza, AI; Cobb, SA; Wilhoite, GJ; Bacon, J. VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am. J. Hum. Genet.* **89**, 162–167 (2011).
74. Shannon, B; Soto-Ortolaza, A; Rayaprolu, S; Cannon, HD; Labbe, C; Beitez, BA; Choi, J; Lynch, T; Boczarska-Jedynak, M; Opala, G. Genetic variation of the retromer subunits VPS26A/B-VPS29 in Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging*. **35**, 1951–1952 (2014).
75. Gustavsson, EK; Guella, I; Trinh, J; Szu-Tu, C; Rajput, A; Rajput, AH; Steele, JC; McKeown, M; Jeon, BS; Aasly, J. Genetic variability of the retromer cargo recognition complex in parkinsonism. *Mov. Disord.* **30**, 580–584 (2015).
76. McMillan, K. J., Korswagen, H. C. & Cullen, P. J. The emerging role of retromer in neuroprotection. *Curr. Opin. Cell Biol.* **47**, 72–82 (2017).
77. Song, L. Auxilin underlies progressive locomotor deficits and dopaminergic neuron loss in a Drosophila model of Parkinson's disease. *Cell Rep.* **18**, 1132–1143 (2017).
78. Pan, P. Parkinson disease associated LRRK2 hyperactive kinase mutant disrupts synaptic vesicle trafficking in ventral midbrain neurons. *J. Neurosci.* **37**, 11366–11376 (2017).
79. World Alzheimer Report 2018 | Alzheimer's Disease International. Available at: <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018>. (Accessed: 28th May 2019)
80. Pinheiro, L. & Faustino, C. Therapeutic Strategies Targeting Amyloid- β in Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **16**, 418–452 (2019).
81. Choi, SH; Kim, YH; Hebisch, M; Sliwinski, C; Lee, S; D'Avanzo, C. A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease. *Nature* **515** (7526), 274–278 (2015).
82. Karran, E; Hardy, J. A critique of the drug discovery and phase 3 clinical programs targeting the amyloid hypothesis for Alzheimer's disease. *Ann Neurol* **76**, 185–205 (2014).
83. Knopman, D. S. Bad news and good news in AD, and how to reconcile them. *Nat. Rev.*

- Neurol.* **15**, 61–62 (2019).
84. Cummings, J. L., Tong, G. & Ballard, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *J. Alzheimers. Dis.* **67**, 779–794 (2019).
 85. Israel, M. A. *et al.* Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature* **482**, 216–220 (2012).
 86. Encarnaçao, M; Espada, L; Escrevente, C. A Rab3a-dependent complex essential for lysosome positioning and plasma membrane repair. *J Cell Biol.* **213**, 631–640 (2016).
 87. Tavana, JP; Rosene, M; Jensen, NO; Ridge, P; Kauwe, JSK; Karch, C. RAB10: an Alzheimer's disease resilience locus and potential drug target. *Clin. Interv. Aging* **14**, 73–79 (2019).
 88. Ridge, PG; Karch, CM; Hsu, S. Linkage, whole genome sequence, and biological data implicate variants in RAB10 in Alzheimer's disease resilience. *Genome Med.* **9**, 8098–8102 (2017).
 89. Mecozzi, V. J. Pharmacological chaperones stabilize retromer to limit APP processing. *Nat. Chem. Biol.* **10**, 443–449 (2014).
 90. Nixon, R. A. Amyloid precursor protein and endosomal–lysosomal dysfunction in Alzheimer's disease: inseparable partners in a multifactorial disease. *FASEB J.* **31**, 2729–2743 (2017).
 91. Deuschl, G. & de Bie, R. M. A. New therapeutic developments for Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* **15**, 68–69 (2019).
 92. Zella, S. M. A. *et al.* Emerging Immunotherapies for Parkinson Disease. *Neurol. Ther.* **8**, 29–44 (2019).
 93. Dehay, B. Targeting α -synuclein for treatment of Parkinson's disease: mechanistic and therapeutic considerations. *Lancet Neurol.* **14**, 855–866 (2015).
 94. Olanow, CW; Kordower, J. Targeting α -synuclein as a therapy for Parkinson's disease: the battle begins. *Mov. Disord.* **32**, 203–207 (2017).
 95. Mittal, S. β 2-Adrenoreceptor is a regulator of the alpha-synuclein gene driving risk of Parkinson's disease. *Science (80-.)*. **357**, 891–898 (2017).
 96. Searles Nielsen, S; Gross, A; Camacho-Soto, A; Willis, A; Racette, B. β 2-adrenoreceptor medications and risk of Parkinson disease. *Ann Neurol* **84**, 683–693 (2018).
 97. Torra, A. Overexpression of TFEB drives a pleiotropic neurotrophic effect and prevents Parkinson's disease-related neurodegeneration. *Mol. Ther.* **26**, 1552–1567 (2018).
 98. Cresto, N. The unlikely partnership between LRRK2 and α -synuclein in Parkinson's disease pathogenesis. *Eur. J. Neurosci* (2018).
 99. Bendikov-Bar, I; Maor, G; Filocamo, M; Horowitz, M. Ambroxol as a pharmacological chaperone for mutant glucocerebrosidase. *Blood Cells Mol. Dis.* **50**, 141–145 (2013).
 100. McNeill, A. Ambroxol improves lysosomal biochemistry in glucocerebrosidase mutation-linked Parkinson disease cells. *Brain* **137**, 1481–1495 (2014).
 101. Sardi, S. Glucosylceramide synthase inhibition alleviated aberrations in synucleinopathy models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **114**, 2699–2704 (2017).
 102. Malagelada, C; Jin, Zh; Jackson-Lewis, V; Przedborski, S; Green, L. Rapamycin protects against neuron death in vitro and in vivo models of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* **30**, 1166–1175 (2010).
 103. Cui, Y., Yang, Z. & Teasdale, R. D. The functional roles of retromer in Parkinson's disease. *FEBS Lett.* **592**, 1096–1112 (2018).